

Aus der Urologischen Klinik
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

BEEINFLUSSUNG DER INTRAPROSTATISCHEN REDUKTION VON
 H^3 -TESTOSTERON DURCH CYPROTERONACETAT (ANDROCUR^R)
UND HEPARIN (LIQUEMIN^R) AM MENSCHLICHEN PROSTATA-
ADENOM IN VITRO.

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin der Jo-
hannes Gutenberg-Universität, Mainz, den Medizinischen
Fachbereichen

vorgelegt von

Michael Neuner
aus Aschaffenburg

Mainz 1975

1976



Aus der Urologischen Klinik
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

BEEINFLUSSUNG DER INTRAPROSTATISCHEN REDUKTION VON
 H^3 -TESTOSTERON DURCH CYPROTERONACETAT (ANDROCUR^R)
UND HEPARIN (LIQUEMIN^R) AM MENSCHLICHEN PROSTATA-
ADENOM IN VITRO.

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin der Jo-
hannes Gutenberg-Universität, Mainz, den Medizinischen
Fachbereichen

vorgelegt von

Michael Neuner
aus Aschaffenburg

Mainz 1975



Fachbereichsdekan: Professor Dr. H. Langendorf

Referent: Professor Dr. J. E. Altwein

Korreferent: Professor Dr. R. Hohenfellner

Herrn Dr. med. Dr. med. dent. K. Kreusser,
 Facharzt für Zahn-, Mund- und Kieferkrank-
 heiten, Aschaffenburg, in Dankbarkeit ge-
 widmet.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

GLIEDERUNG

	Seite
Einleitung	1
1. Literaturüberblick	
1.1 Wachstumsphasen der Prostata	3
1.2 Die Prostatahypertrophie	3
1.3 Androgenabhängigkeit der Prostata	4
1.3.1 Testosteronsynthese	5
1.3.2 Testosteronmetabolismus	6
1.3.3 Androgenrezeptoren in der Prostata	7
1.4 Die Rolle des Dihydrotestosteron in der Prostatahypertrophie	9
2. Möglichkeiten der konservativen Therapie des Prostataadenoms	11
2.1 Gestagene	11
2.2 Antiandrogene	13
2.3 Östrogene	14
2.4 Bewertung der konservativen Thera- pie des Prostataadenoms	16
3. Arbeitshypothese	18
4. Material und Methode	
4.1 Biologisches Material	20
4.2 Reagentien	21
4.3 Versuchsanordnung	21
4.4 Zertrümmerung	26
4.5 Extraktion der Steroide	26
4.6 Dünnschichtchromatographie	26
4.7 Identifizierung der Steroide	27
4.8 Quantitative Bestimmung der Radio- aktivität	27
4.9 Enzymkinetik	28
Statistische Auswertung	
5. Ergebnisse	31
5.1 Tabellen und graphische Darstellungen	35
6. Diskussion	46
Zusammenfassung	52
Literaturverzeichnis	I - XXI

Seite	Thema
1	Einleitung
2	1.1. Aufgabenstellung
3	1.2. Zielsetzung
4	1.3. Methodik
5	1.4. Ergebnisse
6	1.5. Diskussion
7	1.6. Zusammenfassung
8	1.7. Literaturverzeichnis
9	1.8. Anhang
10	1.9. Glossar
11	1.10. Index
12	1.11. Bibliographie
13	1.12. Abbildungen
14	1.13. Tabellen
15	1.14. Formeln
16	1.15. Zeichnungen
17	1.16. Skizzen
18	1.17. Diagramme
19	1.18. Fotografien
20	1.19. Videos
21	1.20. Audios
22	1.21. Software
23	1.22. Hardware
24	1.23. Netzwerke
25	1.24. Sicherheit
26	1.25. Datenschutz
27	1.26. Umwelt
28	1.27. Wirtschaft
29	1.28. Politik
30	1.29. Gesellschaft
31	1.30. Kultur
32	1.31. Religion
33	1.32. Philosophie
34	1.33. Wissenschaft
35	1.34. Kunst
36	1.35. Sport
37	1.36. Musik
38	1.37. Literatur
39	1.38. Film
40	1.39. Fernsehen
41	1.40. Internet
42	1.41. Mobilfunk
43	1.42. Energie
44	1.43. Verkehr
45	1.44. Gesundheit
46	1.45. Bildung
47	1.46. Arbeitsmarkt
48	1.47. Sozialversicherung
49	1.48. Familie
50	1.49. Altersvorsorge
51	1.50. Migration
52	1.51. Integration
53	1.52. Diversität
54	1.53. Gleichberechtigung
55	1.54. Antidiskriminierung
56	1.55. Menschenrechte
57	1.56. Demokratie
58	1.57. Rechtsstaat
59	1.58. Gewaltfreiheit
60	1.59. Non-Violence
61	1.60. Friedensforschung
62	1.61. Konfliktforschung
63	1.62. Friedenspolitik
64	1.63. Friedensbildung
65	1.64. Friedensökonomie
66	1.65. Friedensökologie
67	1.66. Friedensethik
68	1.67. Friedensreligion
69	1.68. Friedensphilosophie
70	1.69. Friedenswissenschaft
71	1.70. Friedensstudien
72	1.71. Friedensforschungsinstitut
73	1.72. Friedensforschungszentrum
74	1.73. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz
75	1.74. Friedensforschungsinstitut für Deutschland
76	1.75. Friedensforschungsinstitut für Österreich
77	1.76. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich
78	1.77. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien
79	1.78. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich
80	1.79. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich, England
81	1.80. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich, England, Spanien
82	1.81. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich, England, Spanien, Portugal
83	1.82. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich, England, Spanien, Portugal, Griechenland
84	1.83. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich, England, Spanien, Portugal, Griechenland, Türkei
85	1.84. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich, England, Spanien, Portugal, Griechenland, Türkei, Israel
86	1.85. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich, England, Spanien, Portugal, Griechenland, Türkei, Israel, Libanon
87	1.86. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich, England, Spanien, Portugal, Griechenland, Türkei, Israel, Libanon, Syrien
88	1.87. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich, England, Spanien, Portugal, Griechenland, Türkei, Israel, Libanon, Syrien, Jordanien
89	1.88. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich, England, Spanien, Portugal, Griechenland, Türkei, Israel, Libanon, Syrien, Jordanien, Irak
90	1.89. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich, England, Spanien, Portugal, Griechenland, Türkei, Israel, Libanon, Syrien, Jordanien, Irak, Iran
91	1.90. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich, England, Spanien, Portugal, Griechenland, Türkei, Israel, Libanon, Syrien, Jordanien, Irak, Iran, Afghanistan
92	1.91. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich, England, Spanien, Portugal, Griechenland, Türkei, Israel, Libanon, Syrien, Jordanien, Irak, Iran, Afghanistan, Pakistan
93	1.92. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich, England, Spanien, Portugal, Griechenland, Türkei, Israel, Libanon, Syrien, Jordanien, Irak, Iran, Afghanistan, Pakistan, Indien
94	1.93. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich, England, Spanien, Portugal, Griechenland, Türkei, Israel, Libanon, Syrien, Jordanien, Irak, Iran, Afghanistan, Pakistan, Indien, China
95	1.94. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich, England, Spanien, Portugal, Griechenland, Türkei, Israel, Libanon, Syrien, Jordanien, Irak, Iran, Afghanistan, Pakistan, Indien, China, Japan
96	1.95. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich, England, Spanien, Portugal, Griechenland, Türkei, Israel, Libanon, Syrien, Jordanien, Irak, Iran, Afghanistan, Pakistan, Indien, China, Japan, Korea
97	1.96. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich, England, Spanien, Portugal, Griechenland, Türkei, Israel, Libanon, Syrien, Jordanien, Irak, Iran, Afghanistan, Pakistan, Indien, China, Japan, Korea, Vietnam
98	1.97. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich, England, Spanien, Portugal, Griechenland, Türkei, Israel, Libanon, Syrien, Jordanien, Irak, Iran, Afghanistan, Pakistan, Indien, China, Japan, Korea, Vietnam, Laos
99	1.98. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich, England, Spanien, Portugal, Griechenland, Türkei, Israel, Libanon, Syrien, Jordanien, Irak, Iran, Afghanistan, Pakistan, Indien, China, Japan, Korea, Vietnam, Laos, Kambodscha
100	1.99. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich, England, Spanien, Portugal, Griechenland, Türkei, Israel, Libanon, Syrien, Jordanien, Irak, Iran, Afghanistan, Pakistan, Indien, China, Japan, Korea, Vietnam, Laos, Kambodscha, Thailand
101	2.00. Friedensforschungsinstitut für die Schweiz, Deutschland, Österreich, Italien, Frankreich, England, Spanien, Portugal, Griechenland, Türkei, Israel, Libanon, Syrien, Jordanien, Irak, Iran, Afghanistan, Pakistan, Indien, China, Japan, Korea, Vietnam, Laos, Kambodscha, Thailand, Myanmar

Einleitung

Die Lebenserwartung der Bevölkerung hat seit der Jahrhundertwende ständig zugenommen und beträgt heute nach neueren Studien rund 72 Jahre für das weibliche und 70 Jahre für das männliche Geschlecht. Als Ursachen hierfür werden die Abnahme der Säuglings- und Kindersterblichkeit, die erfolgreiche Bekämpfung der Seuchen- und Infektionskrankheiten und die Verbesserung der sozialen und hygienischen Verhältnisse angeführt.

In Anbetracht dieser Tatsachen gewinnen bestimmte Krankheiten, die bevorzugt bei älteren Patienten auftreten, immer mehr an Bedeutung, so zum Beispiel das Prostataadenom des Mannes, die weitaus häufigste Erkrankung des männlichen Urogenitalsystems. Adenomatöse Gewebsveränderungen der Prostata sind bei Männern zwischen dem 40. und 50. Lebensjahr in 40 - 60 %, bei solchen zwischen dem 60. und 70. Lebensjahr sogar in 60 - 90 % der Fälle nachzuweisen (Nuri and Hochberg 1970). Die Anzahl der Prostataerkrankungen wächst mit steigender Lebenserwartung und ständige Verbesserungen der medizinisch-diagnostischen Methoden lassen ein weiteres Ansteigen der Morbidität erwarten.

Durch die operative Behandlung des Prostataadenoms (Prostatektomie) kann eine vollständige Heilung erzielt werden. Probleme des therapeutischen Vorgehens ergeben sich aber dann, wenn es sich bei den Patienten um Kranke in hohem Alter und mit schlechtem Allgemeinzustand, etwa Kreislaufinsuffizienz oder Diabetes mellitus, handelt oder aber Operationsunwilligkeit von seiten des Patienten besteht. Bei dieser Patientengruppe ist die konservative Behandlung angezeigt.

Der erfolgreichen operativen Behandlung der Prostataadenomkranken steht das Versagen aller bisherigen konservativen Therapieversuche gegenüber (Altwein und Orestano 1975 a). Die medikamentös-hormonale Behandlung hatte bisher rein symptomatischen Charakter, so daß man sich mit einer palliativen Therapie, etwa mit dem Legen eines Dauerkatheters, begnügen mußte.

Zahlreiche Forschungsarbeiten haben bewiesen, daß dem Testosteron und seinem Hauptmetaboliten 5-alpha-Dihydrotestosteron eine wesentliche Bedeutung bei der Entstehung des Prostataadenoms zukommt. Unter diesen Gegebenheiten könnte die negative Beeinflussung des Androgenstoffwechsels im Prostataadenom, sei es durch Beeinflussung des Synthese- und Rezeptorsystems oder durch Inaktivierung des Enzymsystems, klinische Bedeutung erlangen. Positive Ergebnisse aus in-vitro und in-vivo Inkubationsstudien könnten für eine eventuelle konservative Therapie ausgenutzt werden.

In dieser Arbeit wird versucht, an Hand von in-vitro Experimenten festzustellen, ob die Delta⁴-3-Ketosteroid-5-alpha-Oxidoreduktase (5-alpha-Reduktase), das Leitenzym des Testosteronabbaus in der Prostata und in dem Prostataadenom, durch die Medikamente Cyproteronacetat (Androcur^R) und Heparin (Liquemin^R) in ihrer Aktivität zu beeinflussen ist.

Eine mögliche Aktivitätseinschränkung dieses Enzyms könnte im Hinblick auf eine effektive kausale Therapie der benignen Prostatahypertrophie von Bedeutung sein.

1. L I T E R A T U R Ü B E R B L I C K

1.1 Wachstumsphasen der Prostata

Am Ende des dritten Foetalmonats beginnt das Epithel des kranialen Urethra-Abschnittes zu proliferieren und eine Aussprossung zu bilden, die in das umgebende Mesenchym eindringt (Langman 1974). Durch die Sprossung der entodermalen Drüsen entwickelt sich die Prostata, eine tubulo-alveoläre Drüse (Price 1962). Sie umschließt die pars prostatica urethrae und setzt sich aus 40 - 50 getrennten Drüsenstämmen zusammen, die mit ihren Ausführgängen in die Harnröhre einmünden (Watzka 1969).

Neben der topographischen Einteilung in 5 Lobi (Lowsley 1912) kann die Prostata in einen androgenabhängigen Lobus posterior und einen östrogensensiblen Lobus anterior eingeteilt werden (Huggins and Webster 1948); diese Sensibilitätsunterschiede des Gewebes durch Steroide sind angeboren (Moore 1936). Dem Lobus anterior entstammen die periurethralen Drüsen, der Lobus posterior entspricht der eigentlichen Prostata (Andrews 1951). In der foetalen Prostata tritt unter dem Einfluß mütterlicher Östrogene eine squamöse Metaplasie auf, während die fokale Hyperplasie als ein typisches Merkmal androgener Stimulation angesehen werden kann (Orestano 1972). Nach der Geburt schwinden die Gewebsveränderungen und das Organ behält histologische Struktur und Gewicht bis zur Pubertät bei; im 20. Lebensjahr beträgt das Gewicht der Prostata ca. 20 Gramm.

1.2 Die Prostatahypertrophie

Jenseits des 5. Lebensjahrzehnts kommt es zu einer zweiten Wachstumsphase, die im periurethralen Drüsenfeld beginnt und eine intakte Hodenfunktion voraussetzt (Swyer 1944,

Anderson 1966). Die zweite Hyperplasiephase äußert sich in einer meist mehrfachen Vergrößerung mit knotigem Umbau des Organs, wobei die Knoten aus proliferierten Drüsenschläuchen und fibromuskulären Wucherungen des Zwischengewebes bestehen (Hedinger 1974). Betroffen ist der Teil des Organs, der im foetalen und postnatalen Stadium sowie im Erwachsenenalter als östrogensensibel gilt (Lowsley and Kirwin 1944, Huggins and Webster 1948, Andrews 1951).

Je nach Überwiegen einer bestimmten Gewebsform spricht man von einer fibroadenomyomatös, einer adenofibromyomatös oder einer myoadenofibromatös veränderten Prostata; die Wucherungen verdrängen das intakte Gewebe der Prostata. Nach Hedinger (1974) sind die Begriffe "Prostatahypertrophie" und "Prostataadenom", die sich im klinischen Sprachgebrauch eingebürgert haben, pathologisch-anatomisch nicht gerechtfertigt. Zum einen handelt es sich um eine Vermehrung der Zellzahl, einer Hyperplasie, zum anderen um keine echten Geschwülste im Sinne von Adenomen oder Fibromen.

1.3 Androgenabhängigkeit der Prostata

In zahlreichen Untersuchungen wurde bewiesen, daß Wachstum und Funktion der Prostata von einer intakten Hodenfunktion und somit von einer ausreichenden Androgenproduktion abhängig sind (Hunter 1786, Berthold 1849, Moore 1947, Gloyna et al. 1970). Hypophysärer Hypogonadismus und präpubertale Kastration verhindern Wachstum und Entwicklung der Prostata, während exogen zugeführtes Testosteron zu einer normalen Entwicklung des Organs führen (Orestano et al. 1974). Postpubertale Kastration oder Hypophysektomie zu Beginn der zweiten Wachstumsphase führen zu einer Atrophie des Organs, die aber durch vermehrte adrenale Androgensynthese kompensiert wird. Bei

Eunuchen, Eunuchoiden und hypophysären Infantilen kann keine Wucherung der Prostata beobachtet werden (Moore 1947).

Diese Ergebnisse belegen den Zusammenhang zwischen Androgenen, Wachstum und Ausdifferenzierung der Prostata.

1.3.1 Testosteronsynthese

In den Hoden findet die Biosynthese der männlichen Sexu-
alhormone statt (Tamaoki et al. 1969). Die wichtigsten
der vom Hoden produzierten Hormone sind Testosteron, Di-
hydroepiandrosteron und Androstandion. Von diesen Sub-
stanzen ist das Testosteron das am stärksten wirksame
Androgen (Lucas et al. 1957, Oertel and Eik-Nes 1959);
es wird zu 95 % unter dem Einfluß des hypophysären LH
(luteinisierendes Hormon) in den Leydig'schen Zwischen-
zellen des Hodens synthetisiert. Organe wie Leber, Ova-
rien, Prostata, Nebennieren und Skelettmuskulatur bilden
zwar ebenfalls Testosteron, haben aber nur untergeordnete
Bedeutung (Savard et al. 1952, Anliker et al. 1956,
Borgstede et al. 1963, Dorfman et al. 1963, Lipsett and
Korenman 1964, Christensen et al. 1965, Lipsett et al.
1966).

Nach der Synthese wird das Testosteron sowohl an Albu-
mine als auch an Globuline, sogenannte Transportproteine,
gebunden. Der Anteil des freien ungebundenen Testosteron
im Plasma beträgt 0,2 - 3 % der Gesamt-Testosteronkonzen-
tration. Heute nimmt man an, daß das freie Testosteron die
biologisch aktive Form ist.

Nach Vermeulen et al. (1971) nimmt die Testosteronbin-
dung an Plasmaproteine mit zunehmendem Alter ständig zu,
wobei das testosteronbindende Globulin (TBG) aus der beta-
Globulinfraktion die höchste Affinität für Testosteron be-
sitzt (Corvol et al. 1971, Rosenfield 1971, Vermeulen et al.
1971).

Testosteron wird, an Glukuronsäure und Schwefelsäure gebunden und inaktiviert, in wasserlöslicher Form über die Nieren ausgeschieden (Knapstein et al. 1971, Martin et al 1971).

1.3.2 Testosteronmetabolismus

Durch zahlreiche in-vitro und in-vivo Studien konnte der Androgenmetabolismus in der Prostata aufgeklärt werden. Bereits wenige Minuten nach Verabreichung von isotonenmarkiertem Testosteron (H^3 -Testosteron) reichert sich das Hormon in der Prostata von Ratten an (Bruchowsky et al. 1968 b, Tveter and Aakvaag 1969, Hansson 1971, Hansson et al. 1971). Die Prostata besitzt somit die Fähigkeit, Androgene aufzunehmen und in spezifischer Weise zu metabolisieren. Dies wurde von Becker et al. (1971, 1972) auch in in-vivo Experimenten bestätigt.

Als erstes Testosteron-Stoffwechselprodukt wurde durch in-vitro Experimente Androstendion entdeckt (Lemon et al. 1953, Wotitz and Lemon 1954, Breuer et al. 1959); Farnsworth and Brown (1963) fanden in ähnlichen Studien Dihydrotestosteron, Androstendion und Androstandiol. Testosteron kann auf einem 17-Hydroxy Weg zu 5-alpha-Dihydrotestosteron reduziert und auf einem 17-Keto Weg zu Androstendion oxidiert werden; eine Konversion in 5-beta-Dihydrotestosteron ist ebenfalls möglich. Während der 17-Keto-Abbau hauptsächlich in Leber und Muskel stattfindet, ist in der Prostata und den androgen-abhängigen Organen der 17-Hydroxy Weg bevorzugt (Staib 1968). Testosteron wird sowohl beim Feten (Kelch et al. 1971), als auch beim Erwachsenen irreversibel zu 5-alpha-Dihydrotestosteron reduziert, dieses wiederum wird zu Androstandiol umgewandelt. Der Steroidabbau in der Prostata wird im wesentlichen von 4 Enzymen katalysiert (Chamberlain et al. 1966 b). Im Cytoplasma ist die 3-alpha-Hydroxy-C₁₉-Steroid-Dehydrogenase und die

3-beta-Hydroxy-C₁₉-Steroid-Dehydrogenase lokalisiert; beide Enzyme benötigen NADPH₂ als Cofaktor. Die 17-beta-Hydroxy-C₁₉-Steroid-Dehydrogenase wurde aus dem Cytoplasma, den Mitochondrien und den Mikrosomen extrahiert. Die Delta₄-3-Ketosteroid-5-alpha-Oxidoreduktase konnte im Cytosol, den Mitochondrien und den Mikrosomen isoliert werden. Ihre Existenz wurde auch an den Kernmembranen der ventralen Rattenprostata nachgewiesen (Frederiksen and Wilson 1971, Moore and Wilson 1972). Die 5-alpha-Reduktase besitzt die größte Aktivität und katalysiert die Umwandlung von Testosteron zu 5-alpha-Dihydrotestosteron; zu dieser Reaktion ist NADPH₂ als Cofaktor nötig (Chamberlain 1966 b).

Alle Enzyme sind sowohl im tierischen als auch im menschlichen Prostatagewebe nachgewiesen (Farnsworth and Brown 1963). Versuche mit isotoopenmarkiertem Testosteron zeigten, daß das Hormon einer schnellen Konversion zu Dihydrotestosteron unterworfen ist (Tveter and Aakvaag 1969, Wilson et al. 1969, Wilson and Gloyne 1970, Shimazaki et al. 1970, Buric et al. 1972); eine Interkonversion von 3-alpha-Adiol zu 5-alpha-Dihydrotestosteron, die auch für andere Testosteronmetaboliten angenommen werden muß, bewiesen Becker et al. (1972, 1973). Neben polaren und unpolaren Fraktionen mit untergeordneter Bedeutung gelten heute 5-alpha-Dihydrotestosteron, 3-alpha-Androstandiol und Androstendiol als Hauptmetaboliten des Testosteron in-vivo und in-vitro (Bruchowsky and Wilson 1968 a, b, Becker et al. 1973 a, b).

1.3.3 Androgenrezeptoren in der Prostata

Heute gilt es als gesichert, daß die Hauptwirkung von Steroid-Hormonen im Targetorgan die Förderung der Ribonukleinsäuresynthese in den Nuklei ist (Wilson 1963, Williams-Ashman 1965).

Während proteingebundenes Testosteron dem Stoffwechsel entzogen ist, erfolgt die Penetration des Testosteron in die Prostatazelle in Abhängigkeit von einem Konzentrationsgradienten und von dem Vorhandensein von freiem Testosteron (passive Diffusion); dieser Vorgang wird durch Gonadotropine und Prolaktin unter Vermittlung der Adenylcyclase reguliert (Farnsworth 1970). Die Existenz von bestimmten Rezeptormolekülen, Proteine, in der Prostata ist bewiesen (Mainwaring 1969 a, b, Unjehm et al. 1969, Fang et al. 1969 a, Fang and Liao 1971, Aakvaag et al. 1972). Zur Cytoplasmapassage des Testosterons ist ein solches Rezeptorprotein notwendig; Testosteron gelangt in einem gebundenen Protein-Hormonkomplex durch das Cytosol zur Kernmembran oder dem Ergastoplasma und wird dort unter Katalyse der 5-alpha-Reduktase zu Dihydrotestosteron umgebaut (Moore and Wilson 1972). Spezielle, im Cytoplasma lokalisierte, Rezeptormoleküle heften sich nach Mangan und Mainwaring (1971) an die Kernmembranen oder gelangen in das Karyoplasma, wo sie an der Desoxyribonukleinsäure ihre Wirkung entfalten. Neben solchen "spezifischen Rezeptoren" existieren andere, die eine niedrige Bindungskapazität aufweisen und eine Art Speicherfunktion (Orestano 1972) für Androgene darstellen (Mainwaring 1969 a, Wurtman and Jensen 1968). Im Kern wird 5-alpha-Dihydrotestosteron an einen hochspezifischen Rezeptor gebunden, was vermuten läßt, daß Dihydrotestosteron nur in solch gebundener Form seine spezielle Wirkung entfaltet, daß heißt, nur in dieser Form aktiv ist (Anderson and Liao 1968, Fang and Liao 1969 b, 1971, Mainwaring and Peterken 1971). Im Cytoplasma der Prostatazelle findet sich ein dem Kernrezeptor ähnlicher, aber nicht vollständig identischer Dihydrotestosteron-Rezeptor (Rennie and Bruchowsky 1972). Aus dem Kern ausgetretenes oder im Cytoplasma metabolisiertes Dihydrotestosteron wird zu Androstandiol abgebaut.

Der Dihydrotestosteron-Kernrezeptorkomplex scheint für den Transskriptionsschritt der Proteinbiosynthese wichtig; eine allosterische Modifikation biologischer Proteine (Tomkins et al. 1965), eine Coenzymfunktion bei der Proteinsynthese (Tallal et al. 1960) und eine Inaktivierung von Repressormolekülen, woraus eine beschleunigte Syntheseleistung der Zellen resultiert (Liao and Fang 1969), werden diskutiert.

Für die weiteren Testosteronmetaboliten, das 5- α , 3- α -Androstandiol und das 5- α , 3- β -Androstandiol, denen ebenfalls eine Mediatorenrolle zuzukommen scheint, konnten bisher keine Proteinrezeptoren nachgewiesen werden. Somit scheint erwiesen, daß es sich bei dem Dihydrotestosteron um die aktive Form der Androgene handelt und dem Testosteron nur eine Rolle als Prähormon zukommt (Liao and Fang 1969, Wilson 1972).

1.4 Die Rolle des Dihydrotestosteron in der Prostatahypertrophie

Die Bedeutung des Dihydrotestosteron für das Wachstum der Prostata wurde durch zahlreiche in-vitro und in-vivo Studien bewiesen (Fang and Liao 1969 a,b, Gloyne and Wilson 1969, Moore and Wilson 1972, Wilson 1972). Die Hypothese, daß dem Dihydrotestosteron in der Ätiologie der Prostatahyperplasie eine entscheidende Rolle zugemessen ist, wurde durch Studien von Siiteri and Wilson (1970) und Gloyne et al. (1970) bekräftigt. In vergleichenden Experimenten zwischen normalen und hypertrophierten menschlichen Prostatae fand sich in letzteren eine fünffach höhere Dihydrotestosteron-Konzentration. Im Adenomgewebe von Patienten jenseits der 6. Lebensdekade war die Dihydrotestosteron-Konzentration in der inneren periurethralen Region auf das dreibis vierfache gegenüber äußeren Bezirken erhöht. Diese Untersuchungen konnten sowohl durch in-vitro Inkuba-

tionen (McMahon and Thomas 1970), als auch in Prostata-perfusionen bestätigt werden. Eine Kumulation von Dihydrotestosteron wurde auch in hypertrophierten Hundeprostatas gefunden (Gloyne and Wilson 1969, Siiteri and Wilson 1970, Wilson 1972). Als Gründe für die Anhäufung von Dihydrotestosteron im Adenom wird die Tatsache genannt, daß mit zunehmendem Alter die Umsatzrate zurückgeht, ein Ausdruck verminderter Enzymleistung. Dies äußert sich insofern, als Dihydrotestosteron in höheren Konzentrationen die Prostata unmetabolisiert verläßt. Eine Erhöhung des Östrogenspiegels wird ebenfalls für die Dihydrotestosteron-Akkumulation diskutiert. Beim Absinken des freien und gebundenen Testosteronspiegels mit zunehmendem Alter bleibt die Plasmaöstradiolkonzentration unverändert, während der Östronspiegel im Plasma ansteigt (Orestano 1972); somit kommt es zu einer Verschiebung des Östrogen-Androgen-Quotienten (Vermeulen 1973). Bis heute ist es unklar, ob die Dihydrotestosteron-Akkumulation eine Folge des veränderten Zellmetabolismus durch Hyperplasie des Gewebes ist, oder ob die Akkumulation Ursache einer Hyperplasie ist. Histologische Untersuchungen zeigten, daß die Wirkung des Dihydrotestosteron in einer Induktion der Zellproliferation beruht, während andere Testosteronmetaboliten eine Erhöhung der sekretorischen Aktivität bewirken oder für die Epithelerhaltung verantwortlich sind. Im Cytoplasma hat die Dihydrotestosteron-Metabolisierung die Aufgabe, das Hormon in eine Form überzuführen, die nicht an Kernrezeptoren gebunden wird (Bruchowsky and Wilson 1968 b).

2. Möglichkeiten der konservativen Therapie des Prostataadenoms

Aufgrund der bisherigen Untersuchungsergebnisse ergeben sich für die konservativ-medikamentöse Beeinflussung der Prostatahypertrophie folgende Ansatzpunkte:

Es wird versucht, mittels Medikamenten

1. die Androgenaufnahme in die Prostatazelle zu blockieren,
2. die Umwandlung von Testosteron zu Dihydrotestosteron zu verhindern,
3. die Bindung zwischen Dihydrotestosteron und dem intranukleären Rezeptor zu blockieren.

Gegenwärtig stehen zur Therapie des Prostataadenoms folgende Medikamente zur Verfügung:

1. Gestagene (2.1)
2. Antiandrogene (2.2)
3. Östrogene (2.3)

2.1 Gestagene

Im Hinblick auf eine therapeutische Anwendung untersuchten Hahn et al. (1968) in Tierexperimenten die Wirkung von Progesteron, Gestonoron-Capronat (Depostat^R) und 19-Nor-17-alpha-hydroxy-progesteron-capronat. Die Autoren fanden nach Steroidgabe eine erhebliche Atrophie von Prostata und Samenblase; keine regressiven Veränderungen wurden in den Hoden, den normalen Zwischenzellen und der Spermiogenese festgestellt.

Geller et al. (1965) konnten in in-vivo Versuchen mit Hydroxyprogesteroncapronat eine Besserung der Nykturie, einen verzögerten Miktionsbeginn und eine Vergrößerung des Harnstrahles bei den von ihnen behandelten Adenompatienten beobachten. Bei zwei Patienten konnte eine durch cysturethrographische Schätzung objektivierte

Verkleinerung des "Adenoms" um fast 50 % beobachtet werden; ähnliche Ergebnisse erzielte Vahlensiek (1967). Planz und Orestano (1969) fanden nach dreimonatiger Depostatbehandlung (200 mg/Woche) ihrer Patienten eine fünfzigprozentige Abnahme der subjektiven Beschwerden und in 30 % der Fälle eine Größenabnahme der hypertrophierten Prostata; die Autoren beobachteten außerdem eine durch Uroflowmethode objektivierte Kräftigung des Harnstrahles. Ähnliche Erfolge berichteten Lebech and Nordentoft (1967), Nuri and Hochberg (1970), Reichelt (1970) und Fam (1972). Lebech und Nordentoft konnten allerdings keine histologische Veränderung der Prostata nachweisen. Sundsfjord et al. (1971) fanden in in-vivo Versuchen nach Progesteronbehandlung eine signifikante Erniedrigung des Testosteron-, LH- und FSH- und Prolaktinspiegels.

Stern und Eisenfeld (1971) wiesen in in-vivo Versuchen mit erwachsenen kastrierten Ratten eine verminderte Dihydrotestosteron-Umsatzrate nach Gestagenvorbehandlung nach und schlossen daraus, daß Gestagene eine Hemmung der 5-alpha-Reduktaseaktivität bewirken. Dies wurde in ähnlichen Studien von Frederiksen und Wilson (1971) bestätigt.

Im menschlichen Prostatagewebe haben Gestagene vergleichbare Wirkungen. So konnte Volkmer (1975) in in-vitro Inkubationen von menschlichem Prostataadenomgewebe bei steigender Zufuhr von Depostat^R eine zunehmende Unterdrückung der Dihydrotestosteron-Neubildung bei gleichzeitiger Anhäufung von nichtmetabolisiertem Testosteron feststellen. Die Neubildung von Androstandiol wird unter Gestagenzusatz kaum beeinträchtigt (Altwein et Orestano 1975 a).

Ähnliche Wirkung wurde nach Progesteronbehandlung festgestellt. Tveter und Aakvaag (1969) hatten eine Reduktion der Aktivitätsaufnahme in die Samenblasen und Prostata der Ratte durch Progesteron nach intravenöser Gabe von radioaktiv markiertem Testosteron in vivo gemessen. Progesteron setzt die Dihydrotestosteronsynthese herab und vermindert die Proteinbiosynthese über eine Hemmung des Transskriptionsschrittes.

2.2 Antiandrogene

Als Antiandrogene werden Substanzen bezeichnet, welche die Wirkung von Androgenen auf irgendeine Weise aufzuheben vermögen, während Stoffe, die nur über eine Beeinflussung der gonadotropen Hypophysenfunktion die testikuläre Androgensynthese hemmen, nach den heute gültigen Definitionen nicht als Antiandrogene bezeichnet werden (Neumann 1973). Cyproteron und Cyproteronacetat sind die heute bekanntesten und am wirksamsten Stoffe, die, wie die meisten Antiandrogene, synthetisch hergestellt worden sind und sich vom Progesteron ableiten.

Besondere Verdienste in der Antiandrogen-Forschung haben sich die Mitarbeiter um Neumann errungen. Sie untersuchten in zahlreichen Tierexperimenten die Wirkungsweise von Antiandrogenen und fanden nach Applikation eine Atrophie der normalen Prostata und eine reversible Schädigung der Germinalzellen; die Schädigung der Leydig'schen Zwischenzellen war irreversibel. Nach Inkubation mit 17-alpha-Methyl-beta-Nortestosteron (Antiandrogenkomplex) und H^3 markiertem 5-alpha-Dihydrotestosteron fand sich eine Inhibition des nukleären Dihydrotestosteronkomplexes bei gleichzeitiger Verminderung des cytosomalen Dihydrotestosteron (Tveter 1971, Tveter et al. 1970). Die Aufnahme von H^3 markiertem

Dihydrotestosteron durch die Kernfraktion war um 40 % vermindert. Grigorescu und Villée (1973) konnten in in-vivo Experimenten an erwachsenen kastrierten Ratten eine Minderung der RNA-Synthese nach Dihydrotestosteron und Cyproteronacetat in den Prostatae und den Samenblasen feststellen.

Neri et al. (1972) und Neri und Monahan (1973) konnten nach Antiandrogengaben eine Verkleinerung des Prostataadenoms bei Hunden beobachten. Elektronenmikroskopische Studien zeigten eine erhebliche Reduzierung der Epithelhöhhe, die nach Absetzen der Therapie wieder zunahm.

Smith et al. (1973), Neri und Monahan (1973) und Mainwaring (1974) wiesen nach, daß nach Cyproteronacetat in der ventralen Rattenprostata nicht der Testosteronabbau, sondern die 5-alpha-Dihydrotestosteronbindung an den Chromatinkomplex im Nukleus gehemmt wird. In ähnlichen Studien wurde dies auch von Walsh und Gittes (1970) und Walsh und Korenman (1971) bestätigt.

Scott et al. (1966) stellten bei elf von dreizehn Adenompatienten unter der Therapie von 50 mg Cyproteronacetat/die einen günstigen Effekt auf die Obstruktions-symptome in Umgebung des Blasenhal ses fest. Der Harnfluß war in neun von dreizehn Fällen pro Zeiteinheit erhöht; die Restharnbildung war reduziert.

2.3 Östrogene

Zur Östrogentherapie wurden bisher hauptsächlich das Östrogen-Derivat Östradiol-17-beta und das synthetische Diäthylstilböstrol verwandt. Östrogengabe bewirkt eine Schrumpfung der Acini und Tubuli der hypertrophierten Prostata beim Hund (Huggins and Clark 1940). Injektion von Östradiol-17-beta bei Ratten hat eine Gewichtsab-

nahme der Prostata, Atrophie des Epithels und Zunahme des Stromagewebes zur Folge (Woodruff and Umiker 1960). Die Östrogenwirkung kommt wahrscheinlich über eine Suppression der Gonadotropinausschüttung zustande (Groom et al. 1971, Anderson and Müntzing 1972). Auf diese Weise kommt es zu einer Abnahme der Androgenproduktion und einem verminderten Testosteronangebot in der Prostata. An Prostata-Kulturen bewirken Östrogengaben eine Abnahme der Epithelhöhe und eine squamöse Hyperplasie (Lasnitzki 1955, 1966).

Shimazki et al. (1971) inkubierten Gewebe der ventralen Rattenprostata mit isotopenmarkiertem Testosteron und fanden eine Abnahme der 5-alpha-Reduktaseaktivität nach Gabe von natürlichen und synthetischen Östrogenen, während andere Schritte des Stoffwechsels kaum beeinträchtigt waren. Eine Hemmung des Testosteronabbaus durch Östradiol-17-beta und Diäthylstilböstrol an der Prostata des Hundes wurde von Groom et al. (1971) und Peeling und Griffiths (1972) nachgewiesen. Hierbei kam dem synthetischen Östrogen eine nur geringe Hemmwirkung zu. Versuche mit Prostataperfusaten ließen eine Hemmung der Dihydrotestosteronaufnahme in das Gewebe durch Östradiol-17-beta erkennen (Giorgi et al. 1972).

Im Gegensatz zu den oben genannten Autoren schließen Tveter und Aakvaag (1969), Belham und Neal (1971) und Clark et al. (1971) den Einfluß der Östrogene auf den Androgenstoffwechsel in der Prostata aus. Altwein et al. (1974) konnten in in-vitro Versuchen mit menschlichem Prostataadenomgewebe nachweisen, daß die Umsatzrate der 5-alpha-Reduktase durch Östradiol-17-beta praktisch nicht gehemmt wird. Eine geringe Inaktivierung wurde auch nach Diäthylstilböstrolzufuhr beobachtet.

2.4 Bewertung der konservativen Therapie des Prostataadenoms

Zahlreiche Ergebnisse von in-vivo und in-vitro Untersuchungen am tierischen und menschlichen Prostataadenomgewebe lassen die Probleme erkennen, die für die konservative Therapie der Prostatahypertrophie von Wichtigkeit sind:

1. Den Gestagenen kommt zunehmende Bedeutung in der konservativen Therapie der Prostatahypertrophie zu. Gestonoron-Capronat (Depostat^R) bewirkt eine eindeutige Besserung der subjektiven klinischen Beschwerden im ersten Stadium der Prostatahypertrophie. Diese Wirkung beruht wahrscheinlich auf einer kompetitiven Hemmung des Schrittes Testosteron zu Dihydrotestosteron. Eventuell unterdrückt Depostat^R die LH-Freisetzung und dadurch die Androgenbildung in den Hoden. Testosteronrezeptoren in der Prostatazelle werden frei und können wegen der chemischen Ähnlichkeit der Gestagene zum Testosteron von den Gestagenen besetzt werden. Die Testosteronbindung an den Rezeptor ist dadurch blockiert. Diese Annahmen wurden von Fang und Liao (1969 a, b) und Wilson (1972) bekräftigt.

Progesteron hat ähnliche Wirkungen, jedoch den Nachteil, daß es nicht oral wirksam ist. Es kann nur durch schmerzhafte Injektionen parenteral zugeführt werden. Da diese Substanz in der Leber schnell abgebaut wird, sind Injektionen zur Wirkungsentfaltung öfter nötig und bedeuten eine starke Belastung für den Patienten (Lauritzen et al. 1968). Probleme der Dosierung und des Therapiebeginns bedürfen in der Zukunft noch einer befriedigenderen Lösung (Altwein and Orestano 1975).

2. Obwohl in der Therapie des Prostataadenoms mit Antiandrogenen recht vielversprechende Erfolge verzeichnet wurden, die auf einer wahrscheinlichen Hemmung der Informationsübertragung auf die DNS der Prostatazelle beruhen, dürften die Antiandrogene schon deshalb nicht in naher Zukunft zur Anwendung gelangen, weil diese Therapie einen vollständigen Verlust der Libido zur Folge hat (Neumann und Steinbeck 1971).
3. Die Östrogentherapie wurde bisher häufiger beim Prostatacarzinom als beim "Adenom" angewandt. In der androgenblockierenden Wirkung dieser Hormone wurde eine Möglichkeit gesehen, der Entstehung der Prostatahypertrophie vorzubeugen. Befriedigende Erfolge konnten jedoch bisher nur im Stadium I dieser Krankheit erreicht werden. Eine längere und höher dosierte Östrogenapplikation wird wegen der Gefahr einer Gynäkomastie und einer Potenz- oder Persönlichkeitsstörung abgelehnt (Vahlensieck 1967).
4. Die kombinierte Androgen-Östrogentherapie ist heute zugunsten der Gestagene in den Hintergrund getreten, obwohl eine Besserung der Miktionsbeschwerden im Stadium I erreicht werden konnte; es bleibt eine, wenn auch geringe Gefahr der Aktivierung latenter Prostatacarzinome bestehen (Vahlensieck 1967).

3. Arbeitshypothese

Untersuchungen von enzymatischen Reaktionen setzen bei freien Zellen (Zytosol-Kernfraktionen) die Zugabe von Coenzymen voraus (NADPH_2). Nur so ist ein Enzymsystem in der Lage, vorausgesetzt, der pH-Wert und die Temperatur liegen im physiologischen Bereich, sein Wirkungsoptimum zu erreichen.

Am intakten Enzym ist diese Zugabe entbehrlich. In Versuchen mit Prostataadenomzellen ist die mechanische Zellzerkleinerung mit Abtrennung subzellulärer Zellfraktionen wegen des Bindegewebsgehaltes nicht mehr möglich. Somit wird mit der intakten Zelle experimentiert, vorausgesetzt, daß die physiologischen Forderungen (pH-Optimum, 37°C) erfüllt werden können.

Durch solche Kurzzeitinkubationen werden also in-vivo-Bedingungen imitiert. Das Steroid, über das Medium herangebracht, dringt gemäß eines osmotischen Gleichgewichtsgradienten ein, sofern nicht intrazelluläre Liganden bestehen.

Steroide werden über einen Zweischnittmechanismus aktiviert (Karlson 1961).

Ziel dieser Arbeit war es, festzustellen, ob:

1. extrakorporal, unter in-vitro angeglichenen Bedingungen, das Multienzymsystem der einzelnen Zelle funktionstüchtig bleibt. Die Verhältnisse sind an der Prostata insofern für orientierende zellkinetische Studien geeignet, als der quantitative Schritt, Testosteron zu Dihydrotestosteron, dominiert, während alle anderen Schritte untergeordnete Bedeutung haben.

Somit ist die Dihydrotestosteronbildung ein angemessener Parameter für die Reduktionskapazität der Prostatazelle.

2. Es wurde versucht, eine der üblichen graphischen Darstellungsweisen für eine enzymatische Reaktion zu verwenden.
3. Ferner wurde das Verhalten der 5-alpha-Reduktase in Gegenwart der Substanzen Cyproteronacetat (Androcur^R) und Liquemin^R untersucht, um festzustellen, ob der kritische Schritt der androgenen Wirkungsentfaltung auf Zellniveau beeinflußt werden kann.
4. Auf diesem Wege soll eine Dosis ermittelt werden, die eine eventuelle konservative Therapie der Prostatahypertrophie in-vivo ermöglicht.

4. Material und Methode

4.1 Biologisches Material

Es wurde das Gewebe von 12 histologisch gesicherten Prostataadenomen untersucht, die durch transvesikale Prostatektomie entnommen worden waren. Anschließend wurde das Gewebe in eiskalter physiologischer Kochsalzlösung aufbewahrt. Die Weiterverarbeitung erfolgte binnen zwei Stunden nach Operation, um einer regressiv-autolytischen Veränderung des Gewebes vorzubeugen. Die histologische Untersuchung ergab stets eine cystadenofibromyomatöse Hyperplasie der periurethralen Drüsen ohne Anhalt für Malignität.

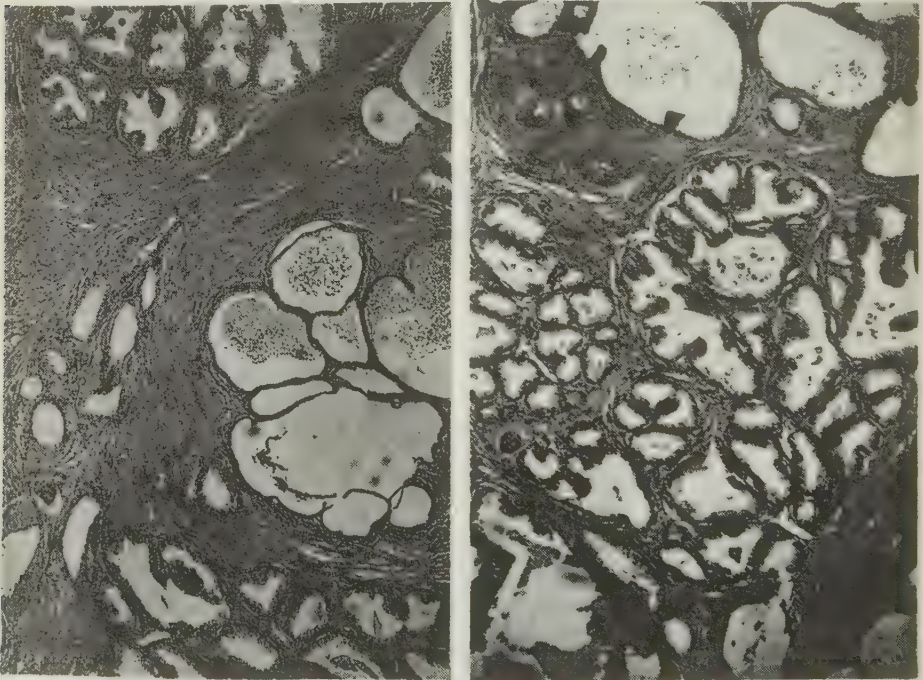


Abbildung 1 und 2: Menschliche Prostatahypertrophie

Patient: Becker, R., 63 Jahre; Prostatektomie am 8.5.1973.

Histologischer Befund: Cystadenofibromyomatöse Hyperplasie der periurethralen Drüsen.

Vergr.: 40-fach, Färbung: Hämatoxylin-Eosin
Path. Inst. Nr. 10644/73

4.2 Reagentien

Cyproteronacetat (Androcur^R) (Fa. Schering AG, Berlin) und Heparin (Liquemin^R, Fa. Hoffmann-La Roche AG, Grenzach) wurden in absolutem Äthanol gelöst. Vor der Zugabe der Substanzen zu den Proben wurden die Lösungsmittel mit Hilfe eines schwachen Preßluftstromes eingedampft.

7- α -³H-Testosteron (Radio-Chemical-Center, Amersham, Berkshire), spezifische Aktivität 5 Ci/mmol, wurde im System Hexan/Methanol/H₂O (5:4:1 V/V/V) durch Papierchromatographie gereinigt und anschließend in Äthanol gelöst.

Die Referenz-Substanzen, die bei der vergleichenden Papierchromatographie als Trägerstoffe Verwendung fanden, wurden mit Silica-Gel F 245 Dünnschicht-Platten auf ihre Reinheit geprüft. Es waren folgende Referenzsteroidoide in Äthanol gelöst:

- | | |
|-----------------------------------|--|
| 1. Testosteron | = Androst-4-en-17 β -ol-3on |
| 2. 5 α -Dihydrotestosteron | = 5 α -Androstan-17 β -ol-3on |
| 3. 5 β -Dihydrotestosteron | = 5 β -Androstan-17 β -ol-3on |
| 4. 3 α -Androstandiol | = 5 α -Androstan-17 β -3 α -diol |
| 5. 3 β -Androstandiol | = 5 α -Androstan-17 β -3 β -diol |
| 6. 5 α -Androstandion | = 5 α -Androstan-3,17-dion |
| 7. 5 β -Androstandion | = 5 β -Androstan-3,17-dion |
| 8. Androstendion | = Androst-4-en-3,17-dion |
| 9. Androsteron | = 5 α -Androstan-3 α -ol-17-on |

1- 3 und 5 - 9 Fa. Merck, Darmstadt

4. Ikapharm, Ramat Gam, Israel

4.3 Versuchsanordnung

Pro Versuch wurden je 300 mg Adenomgewebe abgewogen und instrumentell in Würfel von 1 mm Kantenlänge zerkleinert. Die

Simultan-Inkubation des Materials erfolgte anschließend mit 2 ml Krebs-Ringer-Phosphat-Pufferlösung (pH = 7,4) und mit in Athanol gelöstem 7-alpha-³H-Testosteron in folgenden steigenden Konzentrationen (1 mCi/0,1 ml):

- 1.) $1,7 \times 10^{-8}$ Mol/l
- 2.) $3,5 \times 10^{-8}$ Mol/l
- 3.) 5×10^{-8} Mol/l
- 4.) 10×10^{-8} Mol/l
- 5.) 20×10^{-8} Mol/l
- 6.) 30×10^{-8} Mol/l
- 7.) 60×10^{-8} Mol/l
- 8.) 80×10^{-8} Mol/l
- 9.) 100×10^{-8} Mol/l

Je nach Zugabe von Cyproteronacetat und Heparin in gelöster Form wurden folgende Versuchsgruppen gebildet:

1.) Versuchsgruppe A

Steigende 7-alpha-³H-Testosteron-Konzentrationen ohne Zusatz.

2.) Versuchsgruppe B

Steigende 7-alpha-³H-Testosteron-Konzentrationen unter Zusatz von 1 mcg Cyproteronacetat.

3.) Versuchsgruppe C

Steigende 7-alpha-³H-Testosteron-Konzentrationen unter Zusatz von 2 mcg Cyproteronacetat.

4.) Versuchsgruppe D

Steigende 7-alpha-³H-Testosteron-Konzentrationen unter Zusatz von

- a) 500 USP Liquemin^R (USF = United States Pharmacopein)
- b) 1000 USP Liquemin^R
- c) 2000 USP Liquemin^R

Tabelle 1 : Übersicht über die inkubierten Adenomgewebe der Versuchsgruppe A. Steigende H^3 -Testosteron-Konzentrationen ohne Zusatz.

PA = Prostataadenom

PA-Nr.	Patient	Alter	Art der Inkubation	Histologischer Befund
4	Schmitt, O.	77	Sofort-Inkubation	Cystadenofibromyomatose der periurethralen Drüsen
16	Kronberger	71	Sofort-Inkubation	Cystadenofibromyomatose der periurethralen Drüsen
17	Eberhard, A.	72	Sofort-Inkubation	Cystadenofibromyomatose der periurethralen Drüsen
18	Malzer, P.	63	Sofort-Inkubation	Cystadenofibromyomatose der periurethralen Drüsen
19	Kühn, J.	75	Prä-Inkubation	Cystadenofibromyomatose der periurethralen Drüsen
14	Schappert, P.	46	Sofort-Inkubation	normale Prostata

Tabelle 2 : Übersicht über die inkubierten Adenomgewebe der Versuchsgruppe B. H^3 -Testosteron-Konzentration unter Zusatz von 1 mcg Cyproteronacetat.

PA = Prostataadenom

PA-Nr.	Patient	Alter	Art der Inkubation	Histologischer Befund
9	Arnold, P.	74	Inkubation von gefrorenem gelagertem Gewebe	Cystadenofibromyomatose der periurethralen Drüsen
10	Schwanke, G.	63	Inkubation von gefrorenem gelagertem Gewebe	Cystadenofibromyomatose der periurethralen Drüsen

FA-Nr.	Patient	Alter	Art der Inkubation	Histologischer Befund
12	Becker, R.	60	Inkubation von gefrorenem gelagertem Gewebe	Cystadenofibromyomatose der periurethralen Drüsen
11	Schweickard, J.	74	Sofort-Inkubation	Cystadenofibromyomatose der periurethralen Drüsen
13	Bickerle, J.	74	Sofort-Inkubation	Cystadenofibromyomatose der periurethralen Drüsen
15	Pyka, K.	74	Sofort-Inkubation	Cystadenofibromyomatose der periurethralen Drüsen

Tabelle 3 : Übersicht über die inkubierten Adenomgewebe der Versuchsgruppe C. Steigende H¹⁷-Testosteron-Konzentrationen unter Zusatz von 2 mcg Cyproteron-acetat.

PA = Prostataadenom

PA-Nr.	Patient	Alter	Art der Inkubation	Histologischer Befund
9	Arnold, P.	74	Inkubation von gefrorenem gelagertem Gewebe	Cystadenofibromyomatose der periurethralen Drüsen
10	Schwanke, G.	63	Inkubation von gefrorenem gelagertem Gewebe	Cystadenofibromyomatose der periurethralen Drüsen
12	Becker, R.	60	Inkubation von gefrorenem gelagertem Gewebe	Cystadenofibromyomatose der periurethralen Drüsen
11	Schweickard, J.	74	Sofort-Inkubation	Cystadenofibromyomatose der periurethralen Drüsen

PA-Nr.	Patient	Alter	Art der Inkubation	Histologischer Befund
13	Bickerle, J.	74	Sofort-Inkubation	Cystadenofibromyomatose der periurethralen Drüsen
15	Pyka, K.	74	Sofort-Inkubation	Cystadenofibromyomatose der periurethralen Drüsen

Tabelle 4 : Übersicht über die inkubierten Adenomgewebe der Versuchsgruppe D. Steigende H^2 -Testosteron-Konzentrationen mit steigender Liqueminkonzentration.

PA = Prostataadenom

PA-Nr.	Patient	Alter	Art der Inkubation	Histologischer Befund
11	Schweickard, J.	74	Sofort-Inkubation	Cystadenofibromyomatose der periurethralen Drüsen
13	Bickerle, J.	74	Sofort-Inkubation	Cystadenofibromyomatose der periurethralen Drüsen
15	Pyka, K.	74	Sofort-Inkubation	Cystadenofibromyomatose der periurethralen Drüsen
13	Bickerle, J.	74	Sofort-Inkubation	Cystadenofibromyomatose der periurethralen Drüsen
15	Pyka, K.	74	Sofort-Inkubation	Cystadenofibromyomatose der periurethralen Drüsen

Bei einem Versuchsansatz (PA 19) wurde das Material zu Vergleichszwecken vorinkubiert, d.h., das Gewebe wurde für zwei Stunden unter Standardbedingungen ohne Tracerzusatz vorinkubiert und mit 2 ml Krebs-Ringer-Phosphat-Pufferlösung (pH=7) versetzt. Danach wurde das Gewebe mit radioaktivem Testosteron in steigender Konzentration inkubiert.

Da bei Verwendung von nichthomogenisiertem Gewebe das zell-eigene NADPH₂-Coenzym-System intakt bleibt, sind keine weiteren Zusätze erforderlich. Die Proben wurden anschließend bei einer Temperatur von 37°C auf einer Schüttelmaschine Typ 4010 (Fa. Koettermann) in einem Inkubationsschrank (Fa. Heraeus, Typ KB 600 CO₂) bei einer O₂:CO₂-Atmosphäre von 95:5 (V/V) gehalten. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 2 ml Chloroform zu Methanol (2:1 V/V) gestoppt. Nicht sofort verarbeitete Proben wurden im Kühlschrank bei -20°C aufbewahrt.

4.4 Zertrümmerung

Vor der Homogenisierung wurde allen Proben 20 mcg der aufgeführten Referenzsubstanzen als Carrier zugegeben. Das Gewebe wurde unter Eiskühlung 5 Minuten mit dem Ultra-Turrax (Typ 18-10, Ika-Werke) zerkleinert. Der Gewebebrei wurde in NS14-Gläser überführt, Becherglas und Ultra-Turrax wurden darauf dreimal mit insgesamt 8 ml NaCl gespült.

4.5 Extraktion der Steroide

Die Extraktion der Steroide erfolgte anschließend mit Chloroform : Methanol (2:1 V/V) aus der wässrigen Phase auf einer Schüttelmaschine (Typ Sm GE, Fa. Bühler) bei 150 UpM für 30 Minuten. Darauf wurde eine Filtration vorgenommen. Dann wurde die Lösung dreimal mit "Oberer Phase" (Methanol : Chloroform: H₂O, 48:3:49 V/V/V) gewaschen. Die Radioaktivität der wässrigen Phase betrug nur noch 1 %; diese wurde verworfen und das Chloroform-Methanol-Gemisch bei 25°C mit Preßluft eingedampft.

4.6 Dünnschichtchromatographie

Die in der Schüttelbirne befindlichen Steroide wurden in 1 ml Methanol gelöst, wovon 0,2 ml auf DC-Plastikfolien Kieselgel F 254 mit Schichtdicke 0,25 mm und 20 x 20 cm Kantenlänge aufgetragen wurde. Die Bahnbreite betrug 2 cm,

die Lauffläche 18 cm. Es erfolgte dann eine zweimalige Entwicklung in

- a) gesättigtem Chloroform:Methanol, Tanks 97,5:2,5 (V/V)
- b) Dichlormethan:Essigsäureäthylester 80:20 (V/V)

4.7 Identifizierung der Steroide

Die Identifizierung der Steroide erfolgte:

- 1.) Unter UV-Licht bei der Wellenlänge 254 nm. Es kommt zur Darstellung der Δ_4 -Steroide.
- 2.) Durch Chromatographie mittels Dünnschichtscanner II (Fa. Berthold), um die Lage der ^3H -Androgen-Derivate zu kennzeichnen.
- 3.) Durch Anfärbung der Androgen-Derivate mit Anisaldehyd, H_2SO_4 und Essigsäure.
- 4.) Durch Rekristallisierung der einzelnen Substanzen bis zur konstanten spezifischen Aktivität (Axelrod et al. 1965).

4.8 Quantitative Bestimmung der Radioaktivität

Die angefärbten radioaktiven Bezirke wurden ausgeschnitten und in Zählröhrchen (New England Nuclear, Boston, USA) mit 20 ml Szintillationslösung (Toluol: 2,5-Diphenyloxazol: Methanol, 1000:4:100 V/V/V) gegeben. Die Messung erfolgte im TRI-Carb-Liquid Szintillationsspektrometer (Typ 3310, Fa. Packard). Als interner Standard diente ^{226}Ra . Die Aktivitätsausbeute für H^3 -Testosteron lag bei 35 %, der Meßfehler war kleiner als 3 %. Mehr als 60 % der eingesetzten Aktivität wurde wieder aufgefunden.

4.9 Enzymkinetik

Um zu prüfen, ob der Abbau von Testosteron in der Prostataadenomzelle enzymatisch bewirkt wird, wurde bei gleichbleibender Enzymkonzentration die Reaktionsgeschwindigkeit v in Abhängigkeit von verschiedenen Substratkonzentrationen gemessen (Frederiksen and Wilson 1971). Als 5-alpha-Reduktase-Produkte wurden Dihydrotestosteron und 5-alpha-Androstan-3-alpha, 17-beta-diol (Adiol) zusammengefaßt. Die graphische Darstellung erfolgte als $v:(S)$ entsprechend der Michaelis-Menten-Gleichung.

Die Michaelis-Konstante (K_m), d.h. die Substratkonzentration, bei der die Hälfte der Enzymmoleküle mit Substrat gesättigt und demzufolge die halbe Maximalgeschwindigkeit erreicht ist, kann nach der Formel

$$\frac{v}{V} = \frac{(S)}{K_m + (S)}$$

berechnet werden. Bei der graphischen Ermittlung von K_m ermöglicht die doppelt-reziproke Auftragung nach Lineweaver-Burk ($1/v$ gegen $1/(S)$) eine leichtere Auswertung, da man hier keine Sättigungskurve, sondern eine Gerade erhält.

Statistische Auswertung

Zunächst wurde die Reaktionsgeschwindigkeit (v) für jedes inkubierte Gewebe bei steigender Konzentration H^3 -Testosteron/ 2^h ermittelt.

v errechnet sich aus der Formel:

$$v = \frac{(S)^A}{(S)} \times 100$$

- v = Reaktionsgeschwindigkeit
 $(S)^A$ = Anteil der Hauptmetaboliten (Dihydrotestosteron und Adiol) in Prozent
 (S) = H^3 -Testosteron in steigender Konzentration/ 2^h

Die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit (v) von der steigenden Substratkonzentration (S) wurde für jede Versuchsgruppe annähernd graphisch dargestellt (Michaelis-Menten-Diagramme).

Im Lineweaver-Burk-Diagramm wurde die Abhängigkeit von $\frac{1}{v}$ von $\frac{1}{(S)}$ dargestellt. Für die reziproken Werte der einzelnen Versuchsgruppen wurde der Korrelationskoeffizient berechnet. Dieser wird aus der Beziehung

$$r = \frac{N \sum XY - \sum X \sum Y}{\sqrt{[N \sum x^2 - (\sum x)^2] [N \sum y^2 - (\sum y)^2]}}$$

ermittelt.

Liegt eine Korrelation zwischen den x- und den y-Werten vor, so strebt r gegen + 1,0. Beim völligen Fehlen einer Korrelation wird $r = 0$.

Zur genauen graphischen Darstellung der Größen im Lineweaver-Burk-Diagramm wurde die Gerade der linearen Regression erstellt, die sich nach der Gleichung $y = a + bx$ ermitteln läßt, wobei

a = Streckenabschnitt auf der y-Achse

b = Tangens des Steigungswinkels der Geraden ist.

Die Konstanten a und b der Gleichung sind bestimmt durch die Beziehung:

$$I. \quad b = \frac{\sum(xy) - \bar{x} \sum(y)}{\sum(x^2) - \bar{x} \sum(x)}$$

$$\text{II. } a = \bar{y} - b\bar{x}$$

Auf die genaue Berechnung der Approximationskurve im Michaelis-Menten-Diagramm wurde verzichtet.

Zur graphischen Darstellung der gewonnenen Werte erwies sich die logarithmische Darstellung ($v : -\log (S)$), die Auswertung nach Woolf ($(S)/v : (S)$), das Verfahren nach Eadie-Hofstee (1952, $v : v/(S)$), sowie die Auftragung nach Dixon (1953 a und b, $1/v : CI$, wobei $CI = \text{Konzentration des kompetitiven bez. nichtkompetitiven Inhibitors}$) als ungünstig.

5. Ergebnisse

In den Tabellen 5-8 sind der Korrelationskoeffizient r und die Regressionskoeffizienten a und b für die reziproken Werte $1/v$ und $1/(S)$ der einzelnen Versuchsgruppen wiedergegeben. Die Abbildungen 3-10 zeigen die graphischen Darstellungen der gewonnenen Werte entsprechend der Michaelis-Menten-Gleichung und der doppelt-reziproken Auftragung nach Lineweaver-Burk. Es wurden folgende Ergebnisse erzielt:

Versuchsgruppe A. Steigende H^3 -Testosteronkonzentration ohne Zusatz.

Die graphische Darstellung der Beziehung $v : (S)$ (Abb. 3) läßt erkennen, daß bei steigender Substratkonzentration von H^3 -Testosteron ohne weiteren Zusatz die Geschwindigkeit der enzymatischen Reaktion bis zu einer Substratkonzentration von $50-60 \times 10^{-8}$ Mol/l linear ansteigt (first order kinetics). Eine Substratsättigung scheint bei einer Substratkonzentration jenseits von 80×10^{-8} Mol/l H^3 -Testosteron einzutreten. Dies trifft für die Gewebe PA 4, 16, 17, 18 zu, während im Gewebe der normalen Prostata (PA 14) eine Substratsättigung erst bei Konzentrationen über 100×10^{-8} Mol/l möglich ist.

Im präinkubierten Präparat (PA 19) liegt die maximale Reaktionsgeschwindigkeit der 5-alpha-Reduktase bei einem Wert um $20 \text{ p Mol}/300 \text{ mg}/2^h$.

Im Lineweaver-Burk-Diagramm war es bei PA 4, PA 16 und PA 18 möglich, einen Schnittpunkt der Regressionsgeraden mit der negativen x-Achse ($1/S$) und damit $-1/K_m$ zu erhalten, während die Regressionsgeraden von PA 14, 17 und 19 die positive x-Achse schneiden (Abb. 4).

Versuchsgruppe B. Steigende H^3 -Testosteronkonzentration nach Zusatz von 1 mcg Cyproteronacetat (Androcur^R).

In Abbildung 5 ist die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit v von der steigenden Substratkonzentration H^3 -Testosteron (S) nach Zusatz von 1 mcg Cyproteronacetat (Androcur^R) graphisch dargestellt. Bei den inkubierten Geweben PA 9, 10 und 12 handelt es sich um biologisches Material, das vor der Verarbeitung bei $-20^{\circ}C$ tiefgefroren gelagert worden war und zum Versuch aufgetaut wurde. PA 11, 13 und 15 waren Gewebe von Prostataadenomen, die sofort nach der Operation weiterverarbeitet wurden. Im gefroren gelagerten Gewebe erfolgt als Zeichen der Enzymschädigung bei Substratkonzentrationen von $5-25 \times 10^{-8}$ Mol/l H^3 -Testosteron ein mäßiger Anstieg der Reaktionsgeschwindigkeit bis maximal $8 \text{ p Mol/300 mg/2}^h$. In Konzentrationen von $60-100 \times 10^{-8}$ Mol/l nähern sich die Kurven dem Sättigungsbereich, der im sofortinkubierten Gewebe erst bei Konzentrationen über 100×10^{-8} Mol/l einzutreten scheint. Im Gewebe von PA 11 liegt das Enzym schon nach Zugabe von $20-30 \times 10^{-8}$ Mol/l H^3 -Testosteron als Enzym-Substratkomplex vor. Eine weitere Substratzugabe kann die Reaktionsgeschwindigkeit nicht erhöhen, weil kein freies Enzym mehr zur Verfügung steht. Cyproteronacetat scheint in diesem Falle eine eindeutige Hemmung der Enzymaktivität hervorzurufen zu haben.

In der graphischen Darstellung nach Lineweaver-Burk (Abb. 6) war eine graphische Ermittlung der Michaelis-Konstanten für die tiefgefroren gelagerten Gewebe (PA 9, 10, 12) und für das sofortinkubierte Gewebe (PA 11) möglich. Für diese Inkubationen liegt $1/-K_m$ im Bereich von $(-0,01) - (-0,07) \times 10^{-8}$ Mol/l. Diese Werte verdeutlichen, daß schon nach Zugabe von 1 mcg Cyproteronacetat bei sehr geringen Substratkonzentrationen die maximale Reaktionsgeschwindigkeit erreicht ist. Die doppelt reziproke Auftragung ist für PA 13 und 15 in diesem Fall ungünstig, da die Regressionsgeraden

die negative x-Achse nicht schneiden. Dies ist auf die starken Streuwerte der reziproken Konzentrationen im niedrigen Bereich zurückzuführen.

Versuchsgruppe C. Steigende H^3 -Testosteronkonzentration
nach Zusatz von 2 mcg Cyproteronacetat.

Ähnliche Verhältnisse des enzymgesteuerten Substratumsatzes wie in der Versuchsgruppe B liegen auch nach Zusatz von 2 mcg Cyproteronacetat bei steigender Substratkonzentration H^3 -Testosteron vor. Es zeigt sich, daß im tiefgefroren gelagerten Gewebe (PA 9, 10 und 12) eine maximale Sättigung des Enzym-Substratkomplexes schon bei Werten zwischen $60-80 \times 10^{-8}$ Mol/l eintritt. Bei den sofortinkubierten Geweben, PA 13 und 15, tritt eine Substratsättigung erst in Konzentrationen über 100×10^{-8} Mol/l auf, während im Gewebe von PA 11 der Zusatz von Cyproteronacetat eine eindeutige Hemmung der 5-alpha-Reduktase hervorruft (Abb. 7).

$-1/K_m$ konnte im Lineweaver-Burk-Diagramm für die Gewebe PA 9, 10, 11 und 12 graphisch ermittelt werden; die Michaelis-Konstante liegt hier bei Werten um $(-0,015) - (-0,1)$ Mol/l. Bei den Sofortinkubaten PA 13, 15 war die Ermittlung aus schon genannten Gründen nicht möglich (Abb. 8).

Versuchsgruppe D. Steigende H^3 -Testosteronkonzentration
nach Zusatz von Heparin.

Abbildung 9 und 10 zeigen die graphischen Darstellungen des Enzymverhaltens bei steigender H^3 -Testosteronkonzentration und Zufuhr von 500 USP (PA 11), 1000 USP (PA 13 a, 15 a) und 2000 USP (PA 13 b, 15 b) Heparin (Liquemin^R). Im Lineweaver-Burk-Diagramm verlaufen die mathematisch ermittelten Regressionsgeraden nach Zusatz von 1000 und 2000 USP Heparin fast parallel, d.h. unter variierenden Liqueminkonzentrationen sind die ermittelten Werte annähernd gleich. Nach 500

USP Heparin kann eine deutliche Aktivitätsminderung der 5-alpha-Reduktase beobachtet werden. Eine graphische Ermittlung der Michaelis-Konstanten war für alle Gewebe nicht möglich.

Das Michaelis-Menten-Diagramm bestätigt, daß die Zufuhr von 500 USP Heparin die Aktivität der 5-alpha-Reduktase herabsetzt. Während die halbmaximale Geschwindigkeit bei PA 11 um 25×10^{-8} Mol/l liegt, ist diese bei den restlichen Geweben (PA 13 a und b, 15 a und b) erst bei Konzentrationen von 60×10^{-8} Mol/l erreicht.

Eine gemeinsame Regressionsgerade konnte mathematisch für PA 9, 10, 12 (Versuchsgruppe B) und für PA 13 b und 15 b (Versuchsgruppe D, Zusatz von 2000 USP Heparin) ermittelt werden; auf die graphische Darstellung wurde verzichtet.

5.1 Tabellen und graphische Darstellungen

Die Tabellen 4-8 geben den Korrelationskoeffizienten, die Regressionskoeffizienten a und b und die Gleichungen der einzelnen Regressionsgeraden wieder. In den Abbildungen 3-10 sind die ermittelten Werte im Michaelis-Menten-Diagramm und im Lineweaver-Burk-Plot aufgetragen.

Jede Tabelle gibt die Werte einer Versuchsgruppe wieder.

Tabelle 5

Versuchsgruppe A. Korrelations- und Regressions-Koeffizienten für die Beziehung $1/v : 1/(S)$; $y = 1/v$, $x = 1/(S)$

PA-Nr.	Regressionskoeffizienten		Korrelat. Koeff.	Gleichung der Regressions-Geraden
	a	b	r	
4	0,0885	3,8079	0,9764	$y = 0,0885 + 3,8079 x$
14	-0,0011	3,2845	0,9841	$y = -0,0011 + 3,2845 x$
16	0,0164	1,2958	0,9992	$y = 0,0164 + 1,2958 x$
17	-0,0301	2,0378	0,9918	$y = -0,0301 + 2,0378 x$
18	0,0158	2,3650	0,9960	$y = 0,0158 + 2,3650 x$
19	-0,1234	5,7306	0,9895	$y = -0,1234 + 5,7306 x$

Tabelle 6

Versuchsgruppe B. Korrelations- und Regressions-Koeffizienten für die Beziehung $1/v : 1/(S)$; $y = 1/v$, $x = 1/(S)$

PA-Nr.	Regressionskoeffizienten		Korrelat. Koeff.	Gleichung der Regressions-Geraden
	a	b	r	
9	0,1848	5,0225	0,9716	$y = 0,1848 + 5,0225 x$
10	0,0353	6,3147	0,9935	$y = 0,0353 + 6,3147 x$
11	0,2271	3,1171	0,9056	$y = 0,2271 + 3,1171 x$
12	0,2304	5,0625	0,9838	$y = 0,2304 + 5,0625 x$
13	0,0293	2,1055	0,9930	$y = 0,0293 + 2,1055 x$
15	-0,0386	2,3313	0,9947	$y = -0,0386 + 2,3313 x$

Tabelle 7

Versuchsgruppe C. Korrelations- und Regressions-Koeffizienten für die Beziehung $1/v : 1/(S)$; $y = 1/v$, $x = 1/(S)$

PA-Nr.	Regressions-koeffizienten		Korrelat. Koeff. r	Gleichung der Regressions-Geraden
	a	b		
9	0,0716	9,1150	0,9743	$y = 0,0716 + 9,1150 x$
10	0,0707	5,5665	0,9949	$y = 0,0707 + 5,5665 x$
11	0,3351	3,3503	0,9572	$y = 0,3351 + 3,3503 x$
12	0,0707	5,5665	0,9949	$y = 0,0707 + 5,5665 x$
13	-0,0241	2,1785	0,9944	$y = -0,0241 + 2,1785 x$
15	0,0052	1,7414	0,9992	$y = 0,0052 + 1,7414 x$

Tabelle 8

Versuchsgruppe D. Korrelations- und Regressions-Koeffizienten für die Beziehung $1/v : 1/(S)$; $y = 1/v$, $x = 1/(S)$

PA-Nr.	Regressions-koeffizienten		Korrelat. Koeff. r	Gleichung der Regressions-Geraden
	a	b		
11	0,0035	7,3606	0,9916	$y = 0,0035 + 7,3606 x$
13	-0,0014	2,1597	0,9997	$y = -0,0014 + 2,1597 x$
15	-0,0138	1,9474	0,9957	$y = -0,0138 + 1,9474 x$
13	-0,0097	1,8951	0,9781	$y = -0,0097 + 1,8951 x$
15	-0,0137	1,9289	0,9980	$y = -0,0137 + 1,9289 x$

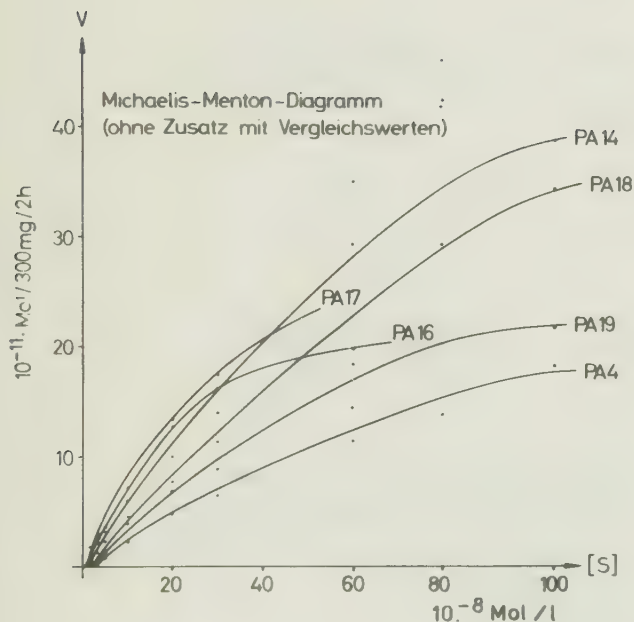


Abbildung 3: Kinetik der 5-alpha-Reduktase. Versuchsgruppe A.

(S) = Substratkonzentration

v = Reaktionsgeschwindigkeit

PA = Prostataadenom

PA 4, 16, 17, 18 = Sofortinkubation

PA 19 = Präinkubation

PA 14 = normale Prostata, Sofortinkubation

Lineweaver - Burk Diagramm
(ohne Zusatz mit Vergleichswerten)

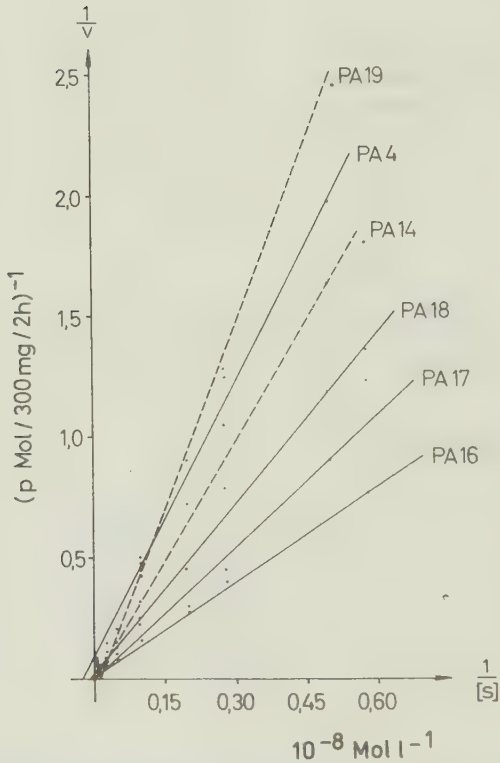


Abbildung 4: Doppelt-reziproke Auftragung nach Lineweaver-Burk. Versuchsgruppe A.
(S) = Substratkonzentration
V = Reaktionsgeschwindigkeit
PA = Prostataadenom
Durchgezogene Geraden: Sofort-Inkubationen
PA 4, 16, 17, 18
Gestrichelte Geraden : Vergleichswerte
PA 14 normale Prostata,
Sofort-Inkubation
PA 19 Präinkubation

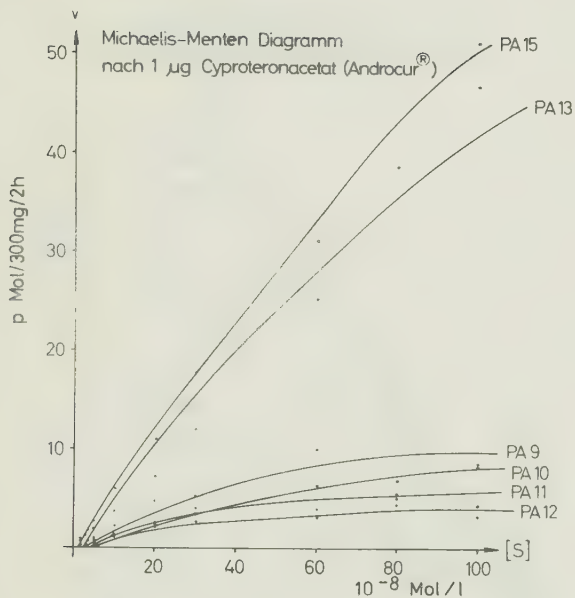


Abbildung 5: Kinetik der 5-alpha-Reduktase. Versuchsgruppe B.
 (S) = Substratkonzentration
 v = Reaktionsgeschwindigkeit
 PA = Prostataadenom
 PA 9, 10, 12 = gefroren gelagerte Gewebe
 PA 11, 13, 15 = Sofortinkubationen

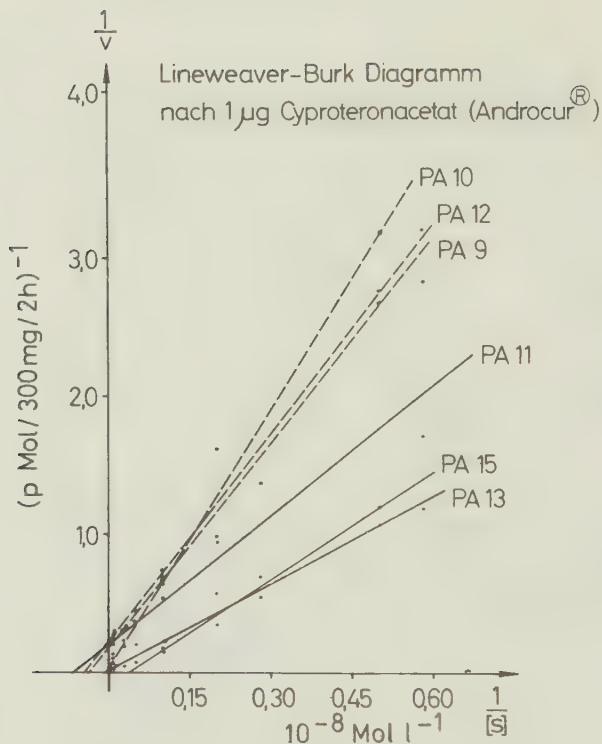


Abbildung 6: Doppelt-reziproke Auftragung nach Lineweaver-Burk. Versuchsgruppe B.
 (S) = Substratkonzentration
 v = Reaktionsgeschwindigkeit
 PA = Prostataadenom
 Durchgezogene Gerade: Sofortinkubation 11, 13, 15
 Gestrichelte Gerade: Gefroren gelagerte Gewebe 9, 10, 12

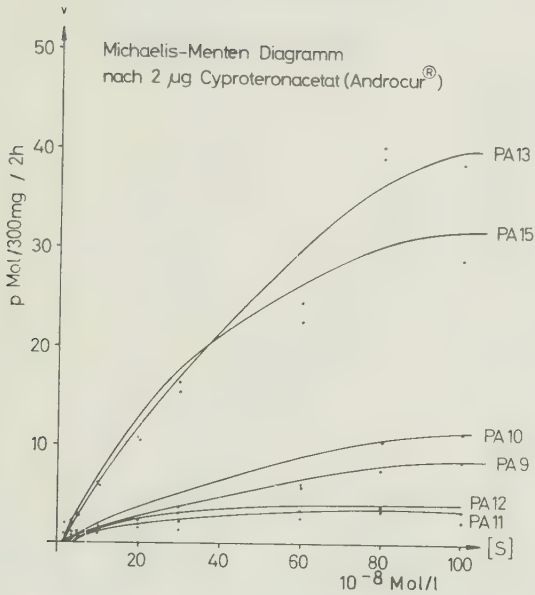


Abbildung 7: Kinetik der 5-alpha-Reduktase. Versuchsgruppe C.
(S) = Substratkonzentration
v = Reaktionsgeschwindigkeit
PA = Prostataadenom
PA 9, 10, 12 : gefroren gelagerte Gewebe
PA 11, 13, 15 : Sofortinkubation

Lineweaver-Burk Diagramm
nach 2 µg Cyproteronacetat (Androcur[®])

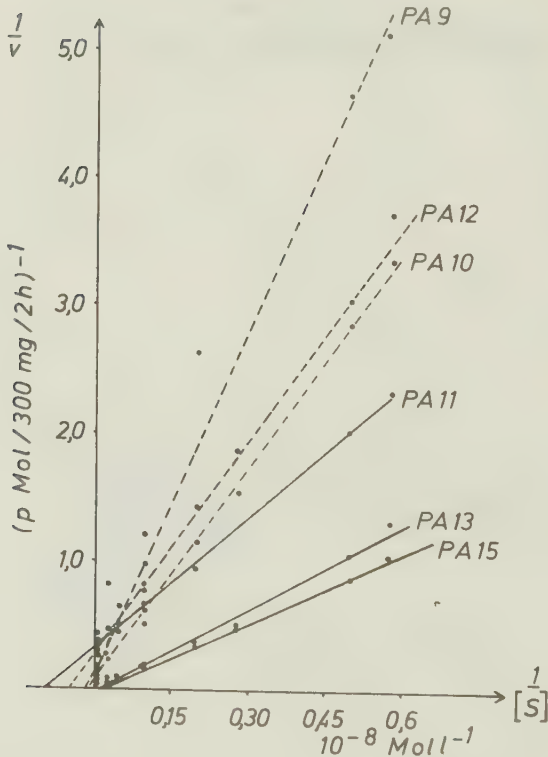


Abbildung 8: Doppelt-reziproke Auftragung nach Lineweaver-Burk. Versuchsgruppe C.
(S) = Substratkonzentration
v = Reaktionsgeschwindigkeit
PA = Prostataadenom
Durchgezogene Geraden: Sofortinkubationen, PA 11, 13, 15
Gestrichelte Geraden: Gefroren gelagerte Gewebe, PA 9, 10, 12

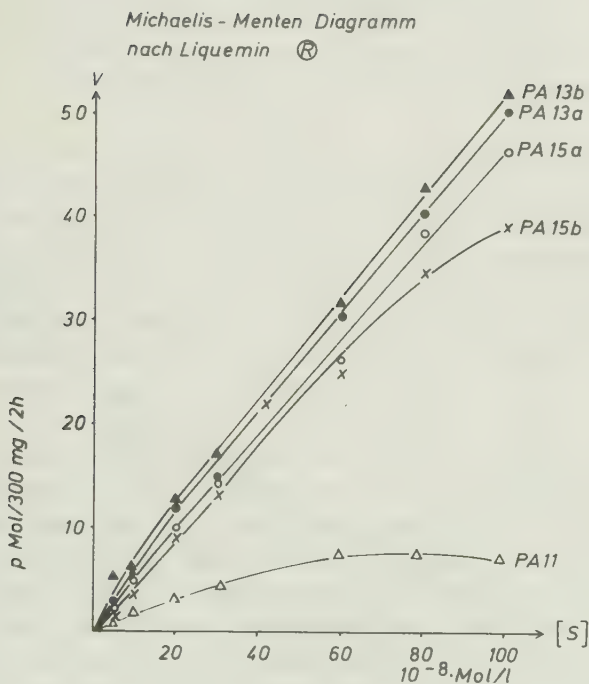


Abbildung 9: Kinetik der 5-alpha-Reduktase. Versuchsgruppe D.

(S) = Substratkonzentration

v = Reaktionsgeschwindigkeit

PA = Prostataadenom

PA 11 = Zusatz vom 500 USP Liquemin^R

PA 13 a, 15 a = Zusatz von 1000 USP Liquemin^R

PA 13 b, 15 b = Zusatz von 2000 USP Liquemin^R

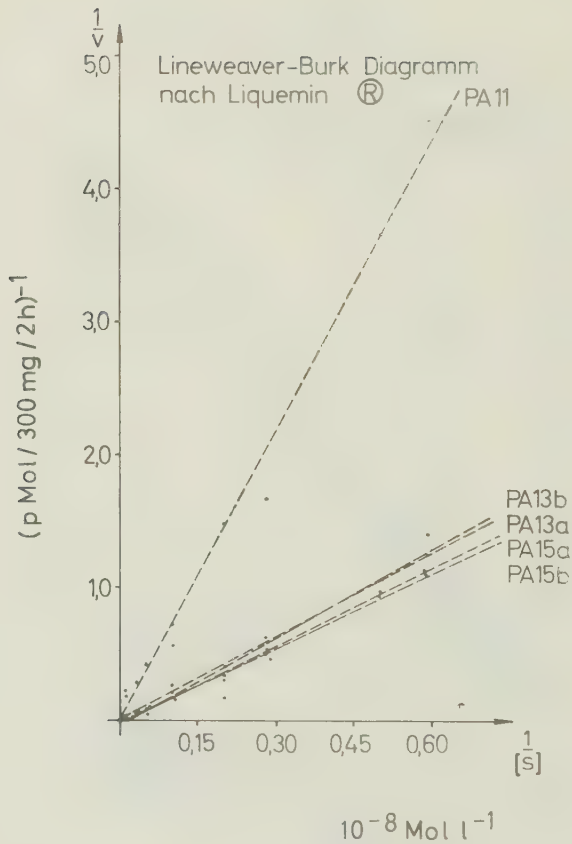


Abbildung 10: Doppelt reziproke Auftragung nach Lineweaver-Burk. Versuchsgruppe D.
 (S) = Substratkonzentration
 v = Reaktionsgeschwindigkeit
 PA = Prostataadenom
 PA 11 = Zusatz von 500 USP Liquemin^R
 PA 13 a, 15 a = Zusatz von 1000 USP Liquemin^R
 PA 13 b, 15 b = Zusatz von 2000 USP Liquemin^R

6. Diskussion

Die vorliegenden Ergebnisse, die aus in-vitro Inkubationsstudien mit menschlichem Prostataadenomgewebe erzielt wurden, bestätigen, daß die hypertrophierte Prostata unter in-vitro-Bedingungen fähig ist, exogen zugeführtes H^3 -markiertes Testosteron zu metabolisieren. Der Testosteronumsatz erfolgte hauptsächlich auf dem 17-Hydroxy-Weg. Dem 17-Keto-Weg kommt dabei nur untergeordnete Bedeutung zu.

Als Hauptmetaboliten wurden die 5-alpha-Reduktionsprodukte des Testosteron, Dihydrotestosteron und Adiol gefunden; diese Angaben stimmen mit den Untersuchungen anderer Autoren (Farnsworth and Brown 1962, 1963; Farnsworth 1969; Shimazaki et al. 1965 und 1971 und 1972; Altwein and Orsano 1975 b) überein. Auf die Auswertung von Androstendion und anderer polarer und unpolarer Fraktionen wurde verzichtet, da sie weniger als 6 % ausmachten.

Die Identität der Androgenmetaboliten im Prostataadenom und in der Prostata wurde durch in-vitro Versuche (Siiteri and Wilson 1970; Gloyna et al. 1970) und in-vivo Studien (Becker et al. 1971, 1972) nachgewiesen, so daß durch die von uns ausgeführten Kurzzeitinkubationen in-vivo Bedingungen imitiert wurden. Auf den Zusatz des Coenzyms $NADPH_2$ konnte verzichtet werden, da die Inkubation nicht länger als zwei Stunden ausgeführt wurde und somit das zelleigene Coenzym intakt bleibt (Gloyna et al. 1970; Farnsworth 1971).

Die durchgeführten Studien bestätigen, "daß bei der Interpretation der qualitativen Ergebnisse von einzelnen Inkubationswerten große Zurückhaltung geboten ist, da sich die einzelnen Adenome bei guter Übereinstimmung der qualitativen Stoffwechselvorgänge offensichtlich in Bezug auf ihre Stoffwechselaktivität stark voneinander unterscheiden können" (Klose 1972).

So konnte bei den Inkubationsversuchen der Gruppe A (Inkubation mit steigender H^3 -Testosteronkonzentration ohne Zusatz) ein unterschiedliches Enzymverhalten der 5-alpha-Reduktase festgestellt werden, unabhängig davon, ob es sich bei dem Versuchsgewebe um sofortinkubiertes oder präinkubiertes Adenomgewebe oder Gewebe von der normalen Prostata handelte. Aus der Michaelis-Menten-Darstellung (Abb. 3) ist zu erkennen, daß beim normalen Prostatagewebe (PA 14) im Vergleich zum Adenomgewebe (PA 4, 16, 17, 18) eine Enzymsubstratsättigung erst mit höheren Konzentrationen zu erreichen ist. Hierbei ist auch an die Möglichkeit zu denken, daß eine Veränderung des pH-Wertes im Adenomgewebe das Enzymverhalten beeinträchtigt und somit eine Aktivitätserniedrigung zu erwarten ist. Dies würde allerdings den Ergebnissen von Siiteri und Wilson (1970) widersprechen. Die Autoren fanden, daß die mittlere Dihydrotestosteronkonzentration fünfmal höher im hypertrophierten Gewebe als im normalen lag, was auf eine Steigerung der 5-alpha-Reduktaseaktivität zurückzuführen ist.

In unseren Studien konnte weiterhin festgestellt werden, daß nach Inkubation von gefroren gelagertem Gewebe im Vergleich zu frischen Operationspräparaten eine eindeutige Aktivitätserniedrigung des Enzymsystems beobachtet werden kann. Dies konnten auch Sinterhauf et al. (1974) in Inkubationsversuchen mit Nebennierengewebe feststellen. Bei Gewebe, das über eine längere Zeitspanne bei $-20^{\circ}C$ gelagert wurde, sind fehlerhafte Ergebnisse im Sinne extremer Differenzen zwischen in-vitro und in-vivo-Bedingungen zu erwarten. (Kältecytolysen).

So zeigte sich in den Inkubationsstudien mit steigender H^3 -Testosteronkonzentration bei Zusatz von 1 mcg bzw. 2 mcg Cyproteronacetat (Androcur^R) eine deutliche Beeinträchtigung des Enzymsystems im gefroren gelagerten Gewebe. Es konnte allerdings nicht bewiesen werden, ob

Cyproteronacetat das durch den Gefriervorgang geschädigte Enzym zusätzlich in seiner Aktivität hemmt, oder ob allein der Gefriervorgang die primäre Ursache für die Aktivitätsminderung ist.

Beim sofortinkubierten Gewebe (PA 13, 15) zeigte die Metabolisierung von Testosteron bis zu einer Konzentration von 60×10^{-8} Mol/l sowohl nach Zusatz von 1 mcg wie auch nach 2 mcg Cyproteronacetat die gleiche Anfangsgeschwindigkeit. In höheren Konzentrationen trat allmählich eine Sättigung des Enzym-Substratkomplexes ein. Hier könnte die Modellvorstellung von Hoffmann et al. (1968) von Wichtigkeit sein, wonach sich der Enzymsubstratkomplex mit Cyproteronacetat zu einem tertiären Komplex verbindet und dann mit einer geringeren Geschwindigkeit zerfällt als der reine Enzymsubstratkomplex. Somit wäre eine Hemmung eingetreten, die dem nichtkompetitiven Typ zuzurechnen ist.

Vergleicht man die Diagramme, die sich aus den Werten nach Zusatz von 1 mcg bzw. 2 mcg Cyproteronacetat ergeben, so kann nach der Gabe von 2 mcg Cyproteronacetat eine frühe Sättigung des Enzym-Substratkomplexes bei etwa $30 - 40 \times 10^{-8}$ Mol/l beobachtet werden, während die Sättigung nach Zugabe von 1 mcg Cyproteronacetat erst bei Mengen von $60 - 80 \times 10^{-8}$ Mol/l nachzuweisen ist.

Obwohl Cyproteron dreimal schwächer wirksam ist als Cyproteronacetat (Walsh and Gittes 1970), konnte von Hoffmann und Breuer (1968) auch eine Aktivitätserniedrigung von Enzymsystemen durch Cyproteron nachgewiesen werden. Die Autoren untersuchten in in-vivo Studien den Einfluß von Cyproteron auf die Aktivitäten von Steroidenzymen an Ratten. Den Tieren wurde über drei Wochen eine Cyproteronmenge bis zu 540 mg injiziert. Neben einer Beeinflussung des androgenbildenden Enzymsystems (17-beta-Hydroxy-Steroid-Oxido-Reduktase) im Sinne einer nichtkompetitiven Hemmung, konnten

die Autoren auch einen hemmenden Einfluss auf andere Enzyme des Steroidstoffwechsels (5-alpha-Reduktase, 5-beta-Reduktasen, Glukuronyltransferase) nach Cyproterongabe feststellen. Bis heute ist es jedoch nicht eindeutig bewiesen, worauf die Wirkung des Cyproteron und des Cyproteronacetats beruht. Zum einen glaubt man, daß durch diese Antiandrogene die Akkumulation von Testosteron und seiner Metaboliten verhindert wird (Geller et al. 1969). Zum anderen scheint die Hypothese, daß Antiandrogene makromolekulare Rezeptoren für die Testosteronbildung blockieren, durch zahlreiche in-vitro und in-vivo Versuche bestätigt zu sein. Cyproteronacetat vermag wahrscheinlich erst in höheren Konzentrationen Enzymsysteme deutlich zu hemmen. In niedrigeren Konzentrationen blockiert Cyproteronacetat wahrscheinlich die Testosteronaufnahme in die Prostatazelle oder besetzt spezielle cytoplasmatische Testosteronrezeptoren.

Schließt man eine Schädigung der Enzymaktivität der 5-alpha-Reduktase durch den Gefriervorgang aus - nach Frederiksen und Wilson (1971) bleibt die 5-alpha-Reduktase beim Gefriervorgang für längere Zeit stabil - so kann nach unseren Ergebnissen eine hemmende Wirkung von Cyproteronacetat auf die 5-alpha-Reduktase selbst in niedrigen Konzentrationen nicht ausgeschlossen werden.

In den Inkubationsstudien mit steigender Konzentration von H^3 -Testosteron und steigender Konzentration Heparin (Liquemin^R) konnte eine eindeutige Aktivitätserniedrigung der 5-alpha-Reduktase beobachtet werden. Bereits nach Zusatz von 500 USP Liquemin^R (PA 11) ist dieser hemmende Einfluß auf das Enzym nachzuweisen. Liquemin^R scheint sich in dieser Konzentration außerhalb des aktiven Enzymzentrums anzulagern. Die enzymatische Aktivität wird somit herabgesetzt, ohne daß die Bindungsverhältnisse zwischen Enzym und Substrat beeinflußt werden. Nach Zugabe höherer Konzen-

trationen Heparin (PA 13 a, b, 15 a, b in Abb. 9 und 10) scheint die 5-alpha-Reduktase kompetitiv gehemmt zu werden. Diese Ergebnisse sind auch durch eine Arbeit von Steinberger und Fischer (1971) bestätigt. Diese Autoren untersuchten in Inkubationsversuchen den Einfluß von Heparin bei steigender Konzentration auf die 5-alpha-Reduktaseaktivität im inkubierten Hodengewebe von Ratten. Ohne Heparinzusatz fand sich eine 84 %-ige Reduzierung des markierten Testosteron, nach 500 USP Heparin wurden 31,5 %, nach 1000 USP Heparin nur 3 % Testosteronreduktionsprodukte aufgefunden.

Durch unsere Studien konnte bestätigt werden, daß Heparin, ein unspezifischer Enzyminhibitor, die 5-alpha-Reduktaseaktivität in steigender Konzentration beeinträchtigt.

Eine spezifische Inhibition der Leber-5-alpha-Reduktase durch Heparin wurde von Krzanowski and Troop (1968) nachgewiesen. Die Autoren fanden, daß Heparin die Reduktion der Doppelbindung in 4-Stellung des Ringes A einer Reihe von C-11-desoxy, Δ^4 -4 Keto-Steroiden in der Rattenleber hemmt. Daraus schloß man, daß Heparin mit NADPH₂ um das Steroid-Reduktase-Apoenzym konkurriert.

Zusammenfassend kann nach der Diskussion folgendes festgestellt werden:

- 1.) In in-vitro Inkubationen von menschlichem Prostataadenomgewebe konnten die bisherigen Erkenntnisse über den Metabolismus des Testosteron bestätigt werden. Als Hauptmetaboliten sind Dihydrotestosteron, Androsteron und Adiol aufgefunden worden.
- 2.) Die 5-alpha-Reduktase ist das Enzym, dem in der Prostata und im Prostataadenom die größte Bedeutung des Testosteronabbaus zukommt.
- 3.) Vergleichende Studien zwischen gefrorenem gelagertem

Adenomgewebe und frischem Operationsgewebe bestätigen, daß durch den Gefriervorgang eine eindeutige Aktivitätsminderung des Enzymsystems hervorgerufen wird.

- 4.) Bei guter Übereinstimmung der qualitativen Stoffwechselvorgänge unterscheiden sich die einzelnen Gewebe in Bezug auf ihre Stoffwechselaktivität.
- 5.) Es konnte nicht mit Sicherheit festgestellt werden, ob im gefrorenen gelagerten Gewebe Cyproteronacetat (Androcur^R) eine inhibitorische Wirkung auf die 5-alpha-Reduktaseaktivität ausübt, oder ob die Aktivitätsminderung nur auf den Gefriervorgang zurückzuführen ist. Im sofortinkubierten Gewebe hat Cyproteronacetat schon in niedrigen Konzentrationen einen hemmenden Einfluß auf die 5-alpha-Reduktase.
- 6.) Heparin, ein unspezifischer Enzyminhibitor, beeinflußt in Konzentrationen von 500-2000 USP die Umsatzrate der 5-alpha-Reduktase.
- 7.) Die erzielten Ergebnisse rechtfertigen nicht die therapeutische Anwendung der Medikamente Cyproteronacetat und Heparin zur konservativen Therapie des Prostataadenoms. Hierzu wären in Zukunft noch weitere in-vitro und in-vivo Untersuchungen nötig.

Zusammenfassung

Zahlreiche in-vitro und in-vivo Inkubationsstudien mit tierischem und menschlichem Prostatagewebe bestätigen, daß dem Testosteronstoffwechsel im Targetorgan eine besondere Rolle zukommt. In der Ätiologie der benignen Prostatahypertrophie scheint das Dihydrotestosteron, ein Reaktionsprodukt des Testosteron, eine zentrale Stellung einzunehmen. Für die konservative Therapie könnte es von entscheidender Bedeutung sein, durch eine negative Beeinflussung des Androgenstoffwechsels im Prostataadenom, sei es durch Hemmung der Testosteronaufnahme in die Zelle, durch Einflußnahme auf die enzymatisch gesteuerte Konversion von Testosteron zu Dihydrotestosteron oder durch Blockierung der nukleären Dihydrotestosteron-Zellkernrezeptoren, mittels Medikamenten eine subjektive und objektive Besserung herbeizuführen.

In der vorliegenden Arbeit wurde das enzymkinetische Verhalten der 5-alpha-Reduktase, ein Enzym mit der größten Aktivität in der Prostata und dem Prostataadenom, bei steigender Testosteronkonzentration von $1,7 \times 10^{-8}$ bis 100×10^{-8} Mol/l, ohne Zusatz, nach Zusatz von 1 mcg und 2 mcg Cyproteronacetat (Androcur^R) und Heparin (Liquemin^R) in einer Menge von 500, 1000 und 2000 USP, in in-vitro Studien untersucht.

Es wurden die Gewebe von 12 Prostataadenomen verarbeitet, wobei die Ansätze aus jeweils 2 ml Pufferlösung, 300 mg Adenomgewebe, 1 mCi H^3 -Testosteron in steigender Konzentration sowie Cyproteronacetat und Heparin bestanden. Je nach Versuchsansatz wurden vier Versuchsgruppen gebildet. Die Proben wurden zwei Stunden lang bei 37°C inkubiert. Dann wurden die Steroide extrahiert und mittels Dünnschichtchromatographie getrennt. Die Ergebnismwerte wurden im Micha-

elis-Menten-Diagramm annähernd aufgetragen; in der doppelt reziproken Auftragung nach Lineweaver-Burk ($1/v : 1/(S)$) wurden die Regressionsgeraden graphisch dargestellt und interpretiert. Es fand sich eine Aktivitätsminderung des Enzymsystems bei gefrorenem gelagertem Gewebe; dieses Ergebnis wird durch eine Arbeit von Sintermann et al. (1974) bestätigt. Ob Cyproteronacetat in einer Menge von 1 mcg und 2 mcg bei steigender H^3 -Testosteronkonzentration oder das Gefrieren des Gewebes, oder gar beide Ursachen für eine Hemmung der 5-alpha-Reduktase verantwortlich sind, konnte nicht mit Sicherheit festgestellt werden. In den sofort inkubierten Präparaten konnte eine Aktivitätsminderung des Enzyms durch das Antiandrogen nachgewiesen werden.

Heparin, ein unspezifischer Enzyminhibitor, scheint in steigender Konzentration einen hemmenden Einfluß auf die 5-alpha-Reduktase auszuüben.

Ob diese Tatsachen für die Therapie der benignen Prostatahypertrophie von entscheidender Bedeutung sein könnten, müßte von Ergebnissen zukünftiger Studien abhängig gemacht werden.

Der heutige Stand der Forschung läßt erkennen, daß mit Gestonoron-Capronat (Depostat^R) bei der konservativen Therapie des Prostataadenoms bisher die weitaus besten Ergebnisse erzielt werden konnten.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

=====

- AAKVAAG, A.,
K.J. TVETER,
O. UNJEHM et al.:
Receptors and bindung of andro-
gens in the prostate.
J. Steroid. Biochem.
3 : 375-384 (1972)
- ALTWEIN, J.E.,
K. KLOSE,
A. RUBIN et al.:
Kinetik der 5-alpha-Reduktase im
Prostataadenom in Gegenwart von
Östradiol, Diäthylstilböstrol,
Progesteron und Gestonoron-capro-
nat (Depostat^R).
Urologe 13 : 41-46 (1974)
- ALTWEIN, J.E., and
F. ORESTANO:
(1975 a)
Endokrinologische Grundlagen der
konservativen Behandlung des Pro-
stataadenoms.
Dtsch. med. Wschr. 100: 626-629
(1975)
- ALTWEIN, J.E., and
F. ORESTANO:
(1975 b)
A systematic study of testosterone
metabolism in benign prostatic
hypertrophy (BPH): In vitro re-
sults.
Urol. Res. 2 : 143-148 (1975)
- ANDERSON, W.A.D.:
Pathology. Vol. I
5 th ed. St. Louis (Missouri) 1966
- ANDERSON, K.M., and
S. LIAO:
Selective retention of dihydro-
testosterone by prostatic nuclei.
Nature (Lond.) 219 : 217-219 (1968)

- ANDERSON, K.M., and
J. MÜNTZING: The effect of a long acting
estrogen on the activity of
some hydrolases in the ventral
prostate of intact castrated
and androgen treated castrated
adult rats.
Invest. Urol. 9 : 401-407 (1972)
- ANDREWS, G.S.: The histology of the human foetal
prepubertal prostates.
J. Anat. 85 : 44-54 (1951)
- ANLIKER, R.,
M. MARTI, and
R. ROHR: Über den Nachweis von Testosteron
in einem virilisierenden Neben-
nierenrindentumor.
Helv. Chim. Acta. 39 : 1100-1106
(1956)
- AXELROD, L.R.,
J.W. GOLDZIEHER,
C. MATTHIJSEN et al.: Definitive identification of
microquantities of radioactive
steroids by recrystallization to
constant specific activity.
Acta. endocr. Suppl. 99 : 7-77
(1971)
- BECKER, H.,
L. BURIC,
C. PETERSEN et al.: Testosterone metabolism in human
prostatic tissue and blood in
patients with BPH.
Acta. endocr. Suppl. 152 : 28
(1971)
- BECKER, H., and
E. GRABOSCH: Metabolism and mode of action of
androgens in target tissues of
male rats. I. Metabolism of test-
osterone and 5-alpha-dihydrotest-
osterone in target organs and in
peripheral tissues.
Acta endocr. (Kbh.) 69 : 153-164
(1972)

- BECKER, H.,
J. KAUFMANN,
H. KLOSTERHALFEN et al.: In vivo uptake and metabolism of ^3H -testosterone and ^3H -5-alpha-dihydrotestosterone by human benign prostatic hypertrophy.
Acta endocr. (Kbh.) 71 : 589-599 (1972)
- BECKER, H.,
E. GRABOSCH,
C. HOFFMANN et al.: Metabolism and mode of action of androgens in target tissues of male rats. III. Metabolism of 5-alpha-androstane-3, 17-dione, of 5-alpha-androstane-3-beta, 17-beta-diol and 3-beta-diol in target organs and peripheral tissues.
Acta endocr. (Kbh.) 73 : 407-416 (1973)
- BECKER, H.,
H. KLOSTERHALFEN,
K.D. VOIGT et al.: Neuere Ergebnisse über den Stoffwechsel von ^3H -Testosteron und ^3H -5-alpha-Dihydrotestosteron in der Prostata und im Prostataadenom.
(1973 b)
Urol. int. 28 : 350-355 (1973)
- BELHAM, J.E., and
G.E. NEAL: Testosterone action in the rat ventral prostate. The effects of diethylstilbestrol and cyproterone acetate on the metabolism of ^3H -testosterone and the retention of labeled metabolites.
Biochem. J.
125 : 81-91 (1971)
- BERTHOLD, A.A.: Transplantation der Hoden.
Arch. Anat. Physiol. Wiss. Med.
16 : 42-56 (1849)

BORGSTEDT, H.,
H.D. HENNING, and
J. ZANDER:

Steroids in a virilizing tumor of
the adrenal cortex.
Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem.
331 : 245-257 (1963)

BREUER, H.,
L. NOCKE, and
I. PECHTHOLD:

Stoffwechsel von Testosteron in
normalen und neoplastischen Ge-
weben des Menschen.
Z. Vitaminforsch. 10 : 106-115
(1959)

BRUCHOWSKY, N., and
J.D. WILSON:
(1968 a)

The conversion of testosterone to
5-alpha-dihydrotestosterone (5-
alpha-androstan-17-beta-ol-3-one)
by rat prostate in vivo and in
vitro.
J. Biol. Chem. 243 : 2012-2021
(1968)

BRUCHOWSKY, N., and
J.D. WILSON:
(1968 b)

The intranuclear binding of test-
osterone and 5-alpha-androstan-17-
beta-ol-3-one by rat prostate.
J. Biol. Chem. 243 : 5953-5960
(1968)

CHAMBERLAIN, J.,
N. JAGARINEC, and
P. OFNER:
(1966 a)

Catabolism of (4-¹⁴C) testosterone
by subcellular fractions of human
prostate.
Biochem. J. 99 : 610-616 (1966)

CHAMBERLAIN, J.,
N. JAGARINEC, and
P. OFNER:
(1966 b)

Metabolism of (4-¹⁴C) testosterone
by microsomal preparations of benign
hypertrophic human prostate (BHP).

- CHRISTENSEN, A.K., and
N.R. MASON: Comparative ability of seminiferous tubules and interstitial tissue of rat testes to synthesize androgens from progesterone-4-¹⁴C in vitro. Endocrinology 76 : 646-656 (1965)
- CLARK, A.F.,
G.D. CARSON,
B. DE LORY et al.: Effects of estrogen on the in vitro ⁴delta-reduction of testosterone by rat prostate and liver. Clin. Res. 19 : 771-775 (1961)
- CORVOL, P.L.,
A. CHRAMBACH,
D. RODBARD et al.: Physical properties and binding capacity of testosterone-estradiol-binding globulin in human plasma, determined by polyacrylamide gel electrophoresis. J. Biol. Chem. 246 : 3435-3443 (1971)
- DIXON, M.: The effect of pH on the affinities of enzymes for substrates and inhibitors. Biochem. J. 55 : 161-170 (1953)
(1953 a)
- DIXON, M.: The determination of enzyme inhibitor constants. Biochem. J. 55 : 170-171 (1953)
(1953 b)
- DOEFMAN, R.J.,
E. FORCHIELLI, and
M. GUT: Androgen biosynthesis and related studies. Rec. Progr. Hormone Res. 19 : 251-273 (1965)
- FAM, A.: Non-operativ management of senile prostatic hyperplasia. J. Urol. 107 : 1022-1024 (1972)

- FANG, S.,
K.M. ANDERSON, and
S. LIAO: Receptor proteins for androgens.
On the role of specific proteins
in selective retention of 17-beta-
hydroxy-5 alpha-androstan-3-one by
rat ventral prostate in vivo and
in vitro.
J. Biol. Chem. 244 : 6584-6595
(1969)
- FANG, S., and
S. LIAO: Dihydrotestosterone binding by
androphilic proteins of the rat
ventral prostate.
Fed. Proc. 28 : 846-848 (1969)
- FANG, S., and
S. LIAO: Androgen receptors.
J. Biol. Chem. 246 : 16-24 (1971)
- FARNSWORTH, W.E.: A direct effect of estrogens on
prostatic metabolism of testosterone
Invest. Urol. 6 : 423-427 (1969)
- FARNSWORTH, W.E.: The normal prostate and its endo-
crine control.
IN: K. GRIFFITHS, C.G. PIERREPONT
(eds.): Some aspects of the
aetiology and biochemistry of
prostatic cancer.
Third Tenovas Workshop, Cardiff,
1970
- FARNSWORTH, W.E.: Uptake of plasma androgens by
human benign hypertrophic prostate.
Invest. Urol. 8 : 367-372 (1971)
- FARNSWORTH, W.E., and
J.R. BROWN: Metabolism of testosterone by human
prostate.
J. Amer. med. Ass. 183 : 436-439
(1962)

- FARNSWORTH, W.E., and
J.R. BROWN: Testosterone metabolism in the prostate.
Nat. Cancer Inst. Monogr. 12 :
323-329 (1963)
- FREDERIKSEN, D.W., and
J.D. WILSON: Partial characterization of the nuclear reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate: ⁴delta-3-ketosteroid 5 alpha-oxidoreductase of rat prostate.
J. Biol. Chem. 246 : 2584-2593
(1971)
- GELLER, J.,
R. BORA,
T. ROBERTS et al.: Treatment of BPH with hydroxyprogesteron-capronat; effect on clinical symptoms, morphology and endocrine function.
J. Amer. med. Ass. 193 : 121-128
(1965)
- GELLER, J.,
O. VAN DAMME,
J. RETTURA et al.: Effect of cyproteron-acetate on H³-testosterone uptake and enzyme synthesis by the ventral prostate of the rat.
Endocrinology 84 : 1330-1365
(1969)
- GIORGI, E.P.,
J.K. GRANT,
J.C. STEWART et al.: Androgen dynamics in vitro in the human prostate gland. Effect of oestradiol-17 beta.
Biochem. J. 126 : 107-121 (1972)
- GLOYNA, R.E., and
J.D. WILSON: A comparative study of the conversion of testosterone to 17 beta-hydroxy-5 alpha-androstan-3-one (DHT) by prostate and epididymis.
J. clin. Endocr. 29 : 970-977
(1969)

GLOYNA, R.E.,
P.K. SIITERI, and
J.D. WILSON:

Dihydrotestosterone in prostatic hypertrophy. II. The formation and content of dihydrotestosterone in the hypertrophic canine prostate and the effect of dihydrotestosterone on prostatic growth in the dog. J. clin. Invest. 49 : 1746-1753 (1970)

GRIGORESCU, A., and
C. VILLEE:

Antagonistic effects of dihydrotestosterone and cyproterone-acetate on the synthesis of RNA. Biochim. biophys. Acta 319 : 165-173 (1973)

GROOM, M.,
A.R. FAHMY,
M.E. HARPER et al.:

The effect of oestrogen on the prostatic metabolism of testosterone in the tissue culture. Biochem. J. 122 : 125-126 (1971)

HAHN, J.D.,
F. NEUMANN,
R. VON BERNSWORDT-
WALLRABE et al.:

Tierexperimentelle Untersuchungen mit 19-Norc 17-alpha-hydroxyprogesteron-capronat im Hinblick auf eine mögliche therapeutische Anwendung beim Prostataadenom. Urologe 7 : 208-214 (1968)

HANSSON, V.:

Uptake and retention of testosterone and 5 alpha-dihydrotestosterone by rat ventral prostate in vitro. Acta endocr. (Kbh.) 68 : 89-97 (1971)

HANSSON, V.,
A. ATTRAMADAL,
K.J. TVETER et al.:

Uptake and binding of 5 alpha-dihydrotestosterone in rat ventral prostate in vivo. Acta endocr. (Kbh.) 67 : 384-392 (1971)

- HANSSON, V.,
A. ATTRAMADAL,
K.J. TVETER et al.: Androgenic receptors in human benign nodular prostatic hyperplasia. Acta endocr. (Kbh.) 68 : 79-88 (1971)
- HEDINGER, CHR.: Männliche Geschlechtsorgane. IN: H. HAMPERL: Lehrbuch der allgemeinen Pathologie und der Pathologischen Anatomie. 29. völlig überarb. Aufl. Berlin, Heidelberg, New York 1974
- HOFFMANN, W.,
H. BREUER, and
F. NEUMANN: Wirkung einer Behandlung mit einem Antiandrogen (Cyproteron) auf die Aktivitäten von Steroidenzymen bei der Ratte. Arzneimittel Forsch. 18 : 586-588 (1968)
- HOFSTEE, B.H.J.: On evaluation of the constants V_m and K_m in enzyme reactions. Science 116 : 329-331 (1952)
- HUGGINS, C., and
P.I. CLARK: Quantitative studies of prostatic secretion. II. The effect of castration and of estrogen injection on the normal and on hyperplastic prostate glands of dogs. J. Exp. Med. 72 : 747-761 (1940)
- HUGGINS, C., and
W.O. WEBSTER: Duality of human prostate in response to estrogen. J. Urol. 59 : 258-266 (1948)
- HUNTER, J.: Observations on certain parts of animal oeconomy. London 1786

- KARLSON, P.: Biochemische Wirkungsweise der Hormone.
Dtsch. med. Wschr. 86 : 668-674
(1961)
- KELCH, R.P.,
U.B. LINDHOLM, and
R.B. JAFFE: Testosterone metabolism in target tissues: 2. Human fetal and adult reproductive tissues, perineal skin and skeletal muscle.
J. clin. Endocr. 32 : 449-461
(1971)
- KLOSE, K.: Testosteronstoffwechsel im Prostata-adenom des Menschen. Beeinflussung der Dihydrotestosteronbildung in vitro durch Progesteron.
Diss. Mainz 1973
- KNAPSTEIN, P.,
J. TOUCHSTONE,
W. WORTHMANN et al.: Metabolism of ^{14}C -testosterone and ^3H -testosterone- ^{35}S -sulphate in human liver in vivo.
Acta endocr. Suppl. 155 : 117
(1971)
- KRZANOWSKI, P.T., and
R.C. TROOP: Inhibition of steroid 4 -Reduktase by Heparin: Studies with desoxycorticosterone, progesterone, androstenedione and testosterone.
Experientia 24 : 225-226 (1968)
- LANGMAN, J.: Medizinische Embryologie.
3. Aufl. Stuttgart 1974
- LASNITZKI, I.: The effect of estrone alone and combined with 20-methylcholanthrene on mouse prostate gland grown in vitro.
Cancer res. 14 : 632-639 (1955)

- LASNITZKI, I.: The effect of estrogen, testosterone and hydrocortisone on the rat prostate gland grown in vitro. Excerpta Med. Intern. Congr. Ser. 111 : 323-333 (1966)
- LAURITZEN, C.W., and D. LEHMANN: Besonderheiten der Wirkungen der einzelnen Gestagene auf Morphologie und Funktion des Genitaltraktes beim Menschen. IN: O. EICHLER et al. (eds.) Handbuch der experimentellen Pharmakologie. Bd. XXII/ 2. Die Gestagene, Teil 2. Berlin, Heidelberg, New York 1969
- LEBECH, P.E., and E. L. NORDENTOFT: A study of endocrine function in the treatment of benign prostatic hypertrophy with megestrol-acetate. Acta obstet. gynec. scand. 46 : 25-38 (1967)
- LEMON, H.M., H.H. WOTITZ, and T. ROBITSCHER: Metabolism of testosterone by neoplastic human prostate. J. clin. Endocr. 13 : 948-956 (1953)
- LIAO, S., and S. FANG: Receptor proteins for androgens and the mode of action of androgens on gene transscription in ventral prostate. Vitam. and Horm. 27 : 17-90 (1969)
- LIPSETT, M.B., and S.G. KORENMANN: Androgen metabolism. J. Amer. med. Ass. 190 : 757-762 (1964)

- LIPSETT, M.B.,
M.A. KIRSCHNER,
H. WILSON et al.: Studies on Leydig cell physiology and pathology secretion and metabolism of testosterone.
Rec. Progr. Horm. Res. 22 : 245-271 (1966)
- LOWSLEY, O.S.: The development of the human prostate gland with reference to the development of other structures at the neck of the urinary bladder.
Amer. J. Anat. 13 : 299-349 (1912)
- LOWSLEY, O.S., and
T.J. KIRWIN: Embriology, anatomy, anomalies and physiology of the prostate gland.
Clinical Urology, 2.ed. Baltimore 1944
- LUCAS, W.M.,
W.F. WHITMORE JR., and
C.D. WEST: Identification of testosterone in human spermatic vein blood.
J. clin. Endocr. 17 : 465-472 (1957)
- LUTZEYER, W.: Prostatahypertrophie.
Z. Allgemeinmed. 7 : 328-333 (1971)
- MAINWARING, W.I.P.: A soluble androgen receptor in the cytoplasm of rat prostate.
(1969 a)
J. Endocr. 45 : 531-541 (1969)
- MAINWARING, W.I.P.: The binding of (1,2-³H)-testosterone within nuclei of the rat prostate.
(1969 b)
J. Endocr. 44 : 323-333 (1969)
- MAINWARING, W.I.P., and
P.M. FEHERTY: Proceedings: An explanation of anti-androgenic properties of a non-steroidal compound, SCH 13521.
New. Engl. J. Med. 219 : 53 (1974)

- MAINWARING, W.I.P., and B.M. PETERKEN: A reconstituted cell-free system for the specific transfer of steroid-receptor complexes into nuclear chromatin isolated from rat ventral prostate gland.
Biochem. J. 125 : 285-295 (1971)
- MANGAN, F.R., and W.I.P. MAINWARING: The possible influence of steroid-receptor complexes on the interaction of DNA and RNA polymerases.
Acta endocr. Suppl. 155 : 151 (1971)
- MARTIN, F.M., C.P. LIDDY, and M.E. BEARY: Metabolism in vitro of (4-¹⁴C) 4-androstene-3, 17-dione by subcellular fractions isolated from livers of normal and carbon tetrachloride-poisoned rats.
Biochem. J. 125 : 116-118 (1971)
- MCCMAHON, M.J., and G.H. THOMAS: The metabolism of testosterone by human prostate in organ culture.
J. Endocr. 48 : 20-21 (1970)
- MOORE, R.A.: The histology of the newborn and prepuberal prostate gland.
Anat. Rec. 66 : 1-9 (1936)
- MOORE, R.A.: Benign hypertrophy and carcinoma of the prostate.
IN: G.H. TWOMBLY, and G.T. PACK (eds.)
Endocrinology of neoplastic disease.
London, New York 1947
- MOORE, R.J., and J.D. WILSON: Localization of the reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate: delta⁴-3-ketosteroid 5 alpha-oxidoreductase in the nuclear membrane of the rat ventral prostate.
J. Biol. Chem. 247 : 958-967 (1972)

- NERI, R.O.,
K. FLORANCE, and
S. VAN CLEAVE:
A biological profile of non-steroidal
antiandrogen, SCH 13521.
(4-Nitro-3-trifluormethylisobutyranil-
ide).
Endocrinology 90 : 427-437 (1972)
- NERI, R.O., and
M. MONAHAN:
Effects of a novel non-steroidal anti-
androgen on canine prostatic hyper-
plasia.
Invest. Urol. 10 : 123-130 (1973)
- NEUMANN, F.:
Antiandrogene.
Med. Klin. 68 : 329-333 (1973)
- NEUMANN, F., and
H. STEINBECK:
Antiandrogene. Tierexperimentelle
Grundlagen und klinische Anwendungs-
möglichkeiten.
Internist. 12 : 198-205 (1971)
- NURI, M., and
H. HOCHBERG:
Behandlung der Prostatahypertrophie
mit Depostat^R.
Münch. med. Wschr. 112 : 1057-1060
(1970)
- OERTEL, G.W., and
K.B. EIK-NES:
Isolation and identification of
testosterone in systemic blood from
normal human male adults.
Proc. Soc. exptl. Biol. 102 : 553-
556 (1959)
- ORESTANO, F.:
In vitro Untersuchungen über den
Testosteron-Metabolismus im Prostata-
adenom und -Carcinomgewebe. Einfluß
von Oestradiol-17-beta oder Progesteron
auf die Konversion von Testosteron in
Dihydrotestosteron.
Habil. Schr. Mainz 1972

- ORESTANO, F.,
J.E. ALTWEIN,
P. Knapstein et al.:
Wirkungsart von Progesteron, Gestononcapronat (Depostat^R) und Cyproteronacetat auf den Metabolismus des Testosteron im menschlichen Prostataadenom: In vitro und in vivo Untersuchungen.
Urologe 13 : 289-292 (1974)
- PEELING, W.B., and
K. GRIFFITHS:
Steroids and prostate.
Proc. roy. Soc. Med. 65 : 127-128
(1972)
- PLANZ, K., and
F. ORESTANO:
Klinik und Therapie der Prostatahypertrophie.
Wien. med. Wschr. 119 : 668-671 (1969)
- PRICE, D.:
Comparative aspects of development and structure in the prostate.
Nat. Cancer Inst. Monogr. 12 : 1-17
(1962)
- REICHELT, H.:
Gestagene - eine wirksame konservative Behandlung der sogenannten Prostatahypertrophie ?
Wien. med. Wschr. 120 : 792-795 (1970)
- RENNIE, P., and
N. BRUCHOWSKY:
In-vitro and in-vivo studies on the functional significance of androgen receptors in rat prostate.
J. Biol. Chem. 247 : 1546-1554 (1972)
- ROSENFELD, R.L.:
Plasma testosterone binding globulin and indexes of the concentration of unbound plasma androgens in normal and hirsute subjects.
J. clin. Endocr. 32 : 717-728 (1971)

- SAVARD, K.M.,
R.I. DORMAN, and
E. POTASSE: Biogenesis of androgens in the human testis.
J. clin. Endocr. 12 : 935-942 (1952)
- SCOTT, W.W., and
H.K.A. SCHIRMER: A new oral progestational steroid effective in treating prostatic cancer
Trans. Amer. Ass. gen.-urin. Surg. 58
54-62 (1966)
- SHIMAZAKI, J.,
H. KURIHARA,
Y. ITO et al.: Testosterone metabolism in prostate; formation of androstan-17 beta-ol-3-one and androst-4-ene-3, 17-dione, and inhibitory effect of natural and synthetic estrogens.
Gunma J. Med. Sci. 14 : 313-325 (1965)
- SHIMAZAKI, J.,
H. NAGAI,
J. SATO et al.: Incorporation of testosterone and 5 alpha-dihydrotestosterone into rat ventral prostate in vitro.
Endocr. jap. 17 : 453-458 (1970)
- SHIMAZAKI, J.,
T. HORAGUCHI,
Y. OHKI et al.: Properties of testosterone 5 alpha-reductase of purified nuclear fraction from ventral prostate of rats.
Endocr. jap. 18 : 179-187 (1971)
- SHIMAZAKI, J.,
N. KATO,
H. NAGAI et al.: 3 alpha-reduction of 5 alpha-dihydrotestosterone by rat ventral prostate.
Endocr. jap. 19 : 97-106 (1972)
- SIITERI, P.K., and
J.D. WILSON: Dihydrotestosterone in prostatic hypertrophy. I. The formation and content of dihydrotestosterone in the hypertrophic prostate of man.
J. clin. Invest. 49 : 1737-1745 (1970)

- SINTERHAUF, K.,
G. DIEDRICHSEN,
P. HERZOG et al.:
In vitro Corticosteroidbiosynthese
in menschlichen Nebennieren. Inku-
bation von Schnitten und Homogenaten
frischen und tiefgefroren gelagerten
Gewebes.
Klin. Wschr. 52 : 816-826 (1974)
- SMITH, R.B.,
P.C. WALSH, and
W.E. GORDWIN:
Cyproteronacetat in the treatment
of advanced carcinoma of the pro-
state.
J. Urol. 110 : 106-108 (1973)
- STAIB, W.:
Der intracelluläre Testosteronstoff-
wechsel. Quantitative Bestimmung von
Testosteron im Harn.
IN: E. KLEIN (ed.)
Das Testosteron, die Struma.
Berlin, Heidelberg, New York
1968
- STEINBERGER, E., and
M. FISCHER:
Formation and metabolism of test-
osterone in testicular tissue of
imature rats.
Endocrinology 89 : 679-684 (1971)
- STERN, J., and
A.I. EISENFELD:
Distribution and metabolism of ^3H -
testosterone in castrated male rats;
effects of cyproterone, progesterone
and unlabeled testosterone.
Endocrinology 88 : 1117-1125 (1971)
- SUNDSFJORD, J.A.,
A. AAKVAAG, and
N. NORMAN:
Reduced plasma testosterone and LH
in young men during progesterone
administration.
J. Reprod. Fertil. 26 : 263-265
(1971)

- SWYER, G.J.M.: Post-natal growth changes in the human prostate.
J. Anat. 78 : 130-153 (1944)
- TALLALY, P., and H.G. WILLIAMS-ASHMAN: Participation of steroid hormones in the enzymatic transfer of hydrogen.
Rec. Prog. Hormone Res. 16 : 1-47 (1960)
- TAMAKI, B., H. INANO, and H. NAKANO: In vitro synthesis and conversion of androgens in testicular tissue.
IN: K.W. MCKERNS (ed.)
The Gonads.
New York 1969
- TOMKINS, G.M., L.D. GARREN, R.R. HOWELL et al.: The regulation of enzyme synthesis by steroid hormones: the role of translation.
J. Cell. Comp. Physiol. 66 : Suppl. 1 : 137-151 (1965)
- TVETER, K.J.: Effect of 17-alpha-methyl-beta-nortestosterone (SK & F 7690) on the binding in vitro of 5-alpha-dihydrotestosterone to macromolecular components from the rat ventral prostate.
Acta endocr. (Kbh.) 66 : 352-356 (1971)
- TVETER, K.J., and A. AAKVAAG: Uptake and metabolism in vivo of testosterone-1,2-³H by accessory sex organs of male rats; influence of some hormonal compounds.
Endocrinology 85 : 683-689 (1969)

- TVETER, K.J.,
A. ATTRAMADAL,
O. UNJEHM et al.: Workshop on steroid hormone receptors.
Berlin 1970
- UNJEHM, O.,
K.J. TVETER, and
A. AAKVAAG: Preliminary characterization of an
androgen-macromolecular complex
from the rat ventral prostate.
Acta Endocr. (Kbh.) 62 : 153-164
(1969)
- VAHLENSIECK, W.: Hormontherapie in der Urologie.
Aesth. Med. 16 : 295-304 (1967)
- VERMEULEN, A.: Plasma levels of androgens and
testicular abnormalities.
Acta Endocrinol. Suppl. 177,
Abstr. 389 (1973)
- VERMEULEN, A.,
T. STOICA, and
L. VERDONCK: The apparent free testosterone
concentration, an index of andro-
genicity.
J. clin. Endocr. 33 : 759-767
(1971)
- VOLKMER, J.R.: Experimentelle Grundlagen zur kon-
servativen Behandlung des Prostata-
adenoms:
In vitro Stoffwechsel von ^3H -Test-
osteron in Gegenwart von Gestonoron-
capronat (Depostat^R).
Diss. Mainz 1974
- WALSH, P.C., and
R.F. GITTES: Inhibition of extratesticular stimuli
to prostatic growth in the castrate
rat by antiandrogens.
Endocrinology 87 : 624-627 (1970)

- WALSH, F.C., and
S.G. KORENMAN: Mechanism of androgenic action:
Effect of a specific intracellular
inhibitor.
J. Urol. 105 : 850-857 (1971)
- WATZKA, M.: Kurzlehrbuch der Histologie und
der mikroskopischen Anatomie.
4. Überarb. Aufl. Stuttgart,
New York 1969
- WILLIAMS-ASHMAN, H.G.: New facts of the biochemistry
of hormone action.
Cancer Res. 25 : 1096-1120 (1965)
- WILSON, J.D.: The nature of the RNA response
to estradiol administration by
the uterus of the rat.
Proc. nat. Acad. Sci. 50 : 93-100
(1963)
- WILSON, J.D.: Recent studies of the mechanism of
action of testosterone.
New. Engl. J. Med. 287 : 1284-1291
(1972)
- WILSON, J.D.,
N. BRUCHOWSKY, and
J.N. CHATFIELD: Intranuclear localisation of testo-
sterone-1,2-³H in rat prostate.
Progress in Endocrinology. Intern.
Congr. Ser. 184, proceedings of
the 3rd International Congress of
Endocrinology.
Excerpta. med. (Amst.) Sect. III
17, (1969)
- WILSON, J.D., and
R.E. GLOYNA: The intranuclear metabolism of
testosterone in the accessory
organs of reproduction.
Rec. Prog. Hormone Res. 26 : 309-
336 (1970)

WILSON, J.D., and
J.D. WALKER:

The conversion of testosterone to
dihydrotestosterone by skin slices
of man.
J. clin. Invest. 48 : 371-379
(1969)

WOODRUFF, M.W., and
W.O. UMIKER:

The effect of estrogen and androgen
on the prostate gland and testes.
J. Urol. 84 : 162-166 (1960)

WOTITZ, H.H., and
H.M. LEMON:

Studies in steroid metabolism. I.
Metabolism of testosterone by human
prostatic tissue slices.
J. Biol. Chem. 206 : 525-532 (1954)

WURTMAN, R.J., and
E.V. JENSEN:

Estrogen receptor: ambiguities in
the use of this term.
Science 159 : 1261 (1968)

Lebenslauf

Am 27.9.1947 wurde ich, Michael Neuner, als erstes Kind des Zahnarztes Karl Neuner und seiner Ehefrau Thea in Aschaffenburg geboren.

Im Jahre 1953 trat ich in die Volksschule, Aschaffenburg, ein und besuchte ab 1957 das Humanistische Gymnasium in Aschaffenburg. Im Jahre 1966 wechselte ich auf das altsprachliche Ludwig-Georg-Gymnasium in Darmstadt über und bestand dort am 18.7.1968 das Abitur.

Nach der Ableistung des Wehrdienstes auf der Bundeswehrzahnstation Hammelburg erhielt ich zum WS 70/71 einen Studienplatz in Humanmedizin und zum WS 71/72 einen Studienplatz in Zahnmedizin an der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz. Hier legte ich im SS 1971 die naturwissenschaftliche Vorprüfung, im WS 72/73 die ärztliche Vorprüfung und im SS 1973 die zahnärztliche Vorprüfung ab.

Die klinischen Semester studierte ich ebenfalls in Mainz und werde im WS 75/76 die ärztliche und im SS 77 die zahnärztliche Prüfung ablegen.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. J.E. Altwein spreche ich für die Überlassung des Themas dieser Arbeit und für seine fortwährende, hilfreiche Unterstützung meinen Dank aus.

Herrn Prof. Dr. med. R. Hohenfellner danke ich für die Übernahme des Korreferates.

Frau H. Kuhlmann und Frau A. Schwabe danke ich sehr für die Unterstützung bei der Durchführung der Versuche.

Frau Adam, Leiterin des Fotolabors der Chirurgischen Universitäts-Klinik, Mainz, danke ich für die Unterstützung bei den fototechnischen Arbeiten.

